Beitrag zur Kenntnis flüchtiger Verbindungen in tierischen und pflanzlichen Stoffen

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT
ZU FRANKFURT AM MAIN

vorgelegt von

Hans Keller
aus Edenkoben/Pfalz

1939

Dissertationsdruckerei F. W. Kalbfleisch in Gelnhausen

1. Gutachter: Professor Dr. Dr. W. Diemair.

2. Gutachter: Professor Dr. H. Dieterle.

Tag der mündlichen Prüfung 24. April 1939.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner lieben Mutter!

Die vorliegende Arbeit wurde am Universitäts-Institut für Nahrungsmittelchemie in Frankfurt a. M. unter der Leitung von Herrn Dr. phil. habil. R. Strohecker im Wintersemester 1936/37 begonnen und in der Zeit vom Wintersemester 1937/38 bis zum Sommersemester 1938 unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Dr. W. Diemair zu Ende geführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinen hochverehrten Lehrern und dem seinerzeitigen Assistenten, Herren Dr. R. Vaubel, für das rege Ienteresse und Wohlwollen, das sie der vorliegenden Arbeit jederzeit entgegenbrachten, auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank auszusprechen.

A. Einführung.

Die Veränderungen der Nahrungs- und Genußmittel durch chemische, physikalische oder biologische Einflüsse stehen in enger Beziehung zu ihrer chemischen Zusammensetzung. Da solche Veränderungen auch mit einem Verderben und damit mit einer allmählichen Verminderung der Genußtauglichkeit des Nahrungsmittels einhergehen können, wurden schon frühzeitig die Bestrebungen des Lebensmittelchemikers und -technologen dahin gelenkt, neben den bisher üblichen sinnesphysiologischen Wahrnehmungen auch durch chemische Nachweis- und Bestimmungsverfahren den Grad einer möglichen chemischen Umsetzung festzustellen. Vor allem waren es die chemisch und biologisch bedingten oxydativen und hydrolytischen Vorgänge und die dabei gebildeten Umsetzungsprodukte, mit denen sich in den letzten Jahren die Forschung beschäftigte.

Unsere Lebensmittel sind in ihrer großen Mehrzahl die Träger der drei wichtigsten Nährstoffgruppen: Kohlenhydrate, Fette und Eiweiß. Die natürlichen Abbau- und Umsetzungsvorgänge werden also im wesentlichen einmal durch die chemische Zusammensetzung dieser drei Stoffgruppen, zum anderen aber durch die in diesen Nahrungsstoffen vorhandenen Enzyme einschließlich anderer Faktoren (Metallspuren usw.) bestimmt.

Gut übersichtlich in der chemischen Reaktionsfolge sind die Verhältnisse bei den Kohlenhydraten. Als primärer Vorgang tritt eine Hydrolyse ein, durch die höher molekulare Polysaccharide (Stärke, Zellulose) unter Aufnahme von Wasser in einfachere Bausteine gespalten werden. So entstehen über die Zwischenstufen einfacher Zucker Hexosen oder Pentosen. Der Hydrolyse folgte die Desmolyse, wobei die bei der Hydrolyse gebildeten Spaltungsstücke weiter abgebaut werden. Über verschiedene Zwischenprodukte: Säuren, Akohole und Aldehyde entstehen als Endprodukte Kohlendioxyd und Wasser. Dieser Vorgang, der unter Aufnahme von großen Mengen Sauerstoff vor sich geht, wird Atmungsstoffwechsel genannt. Der Abbau der Kohlenhydrate unter Mitwirkung von Hefen wird als Spaltungsstoffwechsel bezeichnet. Als Stoffwechselprodukte treten dabei z. B. Alkohole auf, wie dies bei der Vergärung von Zucker bekannt ist.

Die Angaben über das Fettverderben und die dabei auftretenden Zwischen- und Endprodukte sind noch sehr lückenhaft. Man weiß aber, daß bei den Fetten eine hydrolytische Spaltung des Moleküls eintritt, dabei entstehen aus den unveränderten gesättigten und ungesättigten Fettsäuren über verwickelte Reaktionsfolgen, die sich gegenseitig überschneiden, einfache Umsetzungsprodukte, die wir sinnesphysiologisch als „sauer", „ranzig", „fischig", „parfümig", „seifig", „tranig" und „talgig" bezeichnen.

Bei der Hydrolyse der Fette handelt es sich um eine Glyceridverseifung, wobei eine Spaltung in Glycerin und freie Fettsäuren stattfindet. Dieses „Sauerwerden" wird entweder durch rein chemische Einflüsse oder durch hydrolysierende Tätigkeit der Lipasen hervorgerufen. Weiterhin kann diese Erscheinung auch auf dem oxydativen Abbau höher ungesättigter Fettsäuren, wie Oel-, Linol- und Linolensäure zu niedermolekularen Säuren beruhen und verläuft demnach nicht gleichsinnig mit der Hydrolyse.

Über die oxydativen Vorgänge berichten die grundlegenden Arbeiten von A. Tschirch und A. Barben[1]), deren Ergebnisse für die meisten späteren Forschungsarbeiten richtungsgebend waren. Tschirch stellte für den oxydativen Abbau der Fette ein Formelbild auf, nach dem der Luftsauerstoff an die Doppelbindung der Oelsäure angelagert wird. Das entstehende Oelsäureperoxyd zerfällt in Oelsäureoxyd, das durch Einwirkung von Ozon in das Oelsäureozonid übergeführt wird. Dieses wird durch Wasser zerlegt, und das Molekül bricht an der Stelle der Doppelbindung auseinander, wobei einerseits Aldehyde und Ketone mit kürzerer Kohlenstoffkette und andererseits Säuren mit ebenfalls kürzerer Kohlenstoffkette gebildet werden.

W. C. Powick[2]) hat ein anderes Reaktionsschema aufgestellt, dem die Bildung von Oelsäureperoxyd zu Grunde liegt. Durch Einwirkung von aktiviertem Sauerstoff entsteht unter Austritt von zwei Molekülen Wasser das Oxyd der 7—8, 9—10, 11—12 Linolensäure, das mit Sauerstoff unter Bildung eines Doppelperoxyds reagiert. Daraus entsteht durch Anlagerung von 2 O_2 das Doppelperoxyd der Linolensäure, dessen Aufspaltung zu Heptylaldehyd und Epihydrinaldehyd führt.

Nach diesen Beobachtungen beruht also das Ranzigwerden primär auf einer Autoxydation der ungesättigten Glyceride, die an der reaktionsfähigen Lückenbindung einsetzt. Die Bildung

---

[1]) A. Tschirch und A. Barben Schweizer Apothekerztg. **62**, 281/1924.

[2]) W. C. Powick, Journ. Agric. Res. **26**, 323/1923.

peroxydartiger Verbindungen konnte bewiesen und mengenmäßig die Sauerstoffaufnahme durch Wägung oder titrimetrisch ermittelt werden („Lea-Zahl“[3]).

Der primären Bildung von peroxydartigen Verbindungen schließt sich sekundär der weitere Abbau dieser Stoffe an. Der Weg der Zersetzung und damit die Art der gebildeten Abbauprodukte hängen von mannigfachen Faktoren ab, wie Licht, Feuchtigkeit, Temperatur und Katalysatoren. Unter der Menge der gebildeten niedriger molekularen Abbauprodukte treten durch ihre sinnliche Wahrnehmbarkeit besonders Aldehyde hervor. Aus diesem Grund bezeichnet man diese Art des Verderbens als „Aldehydranzigkeit“. Durch die Arbeiten von C. Powick sowie von J. Pritzker und R. J. Jungkunz[4]) ist es bewiesen worden, daß der charakteristische Bestandteil der Epihydrinaldehyd ist und daß er der Träger der sogen. Verdorbenheitsreaktion nach H. Kreis ist. Im Gegensatz zu der als generelle Aldehydreaktion zu bezeichnenden Th. v. Fellenberg-Methode[5]) ist die Kreisreaktion als sehr spezifische Aldehydreaktion anzusprechen und nimmt durch ihren Verlauf unter den Verdorbenheitsreaktionen eine Sonderstellung ein. Ihr methodischer Ausbau erfolgte durch die Arbeiten von K. Täufel[6]) und seinen Mitarbeitern.

Die beim oxydativen Abbau der Fette entstehenden Aldehyde sind meistens im freien Zustand anwesend, während der Epihydrinaldehyd nur spurenweise frei, in der weitaus überwiegenden Menge aber in gebundener Form vorliegt. H. Schmalfuß[7]) und Mitarbeiter unterscheiden daher die „Freialdehydigkeit“ von der „Epihydrinaldehydigkeit“. Der Nachweis der frei vorliegenden

---

[3]) C. Lea, Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. Ber. **108**, 175/1931.
A. Taffer und C. Revis, Journ. Soc. chem. Ind. **50**, Transact. 87/1931.

[4]) J. Pritzker und R. Jungkunz, Z. U. L. **62**, 195/1926.

[5]) Th. v. Fellenberg, Mitt. Lebensm. Unters. u. Hyg. **15**, 198/1924.

[6]) K. Täufel, J. Müller, Z. U. L. **60**, 473/1929.
K. Täufel, P. Sadler und F. Russow, Z. U. L. **44**, 873/1931.
K. Täufel, P. Sadler und F. Russow, Z. U. L. **65**, 540/1933.
K. Täufel, P. Sadler, Z. U. L. **67**, 268 1934.
K. Täufel, Chem. Umschau, **7**, 147/1932.

[7]) H. Schmalfuß, Werner, Gehrke, Marg. Ind. **28**, 43/1935.

Aldehyde gelingt mit fuchsinschwefliger Säure nach Th. v. Fellenberg.

Im Gegensatz zu der auf rein chemische Ursachen zurückgehenden Aldehydranzigkeit ist das biochemische Verderben an die Mitwirkung von Mikroorganismen gebunden. Nach M. Stärkle[8]) vermögen Schimmelpilze, z. B. Penicillium glaucum, einen charakteristischen β-Abbau gesättigter Fettsäuren zu vollziehen. Als Endprodukte treten dabei Methyl-Alkylketone, die Träger der Parfümranzigkeit, auf. Er führte ferner den Nachweis, daß die Aromaträger des Roquefortkäses im wesentlichen diese Methyl-Alkylketone sind.

Auch beim autoxydativen Abbau ungesättigter Fette können sich unter der großen Zahl der Zersetzungsprodukte Ketone befinden, deren experimenteller Nachweis aber noch nicht gelang. H. Thaler[10]) ausgearbeiteten Nachweis von Ketonen mit Sali- Mitwirkung von Kleinlebewesen ketonig werden; Licht oder Wärme beschleunigen den Vorgang, ein Zusatz von Wasser ist nicht nötig. Ebenso verhalten sich auch gesättigte Fettsäuren, ferner Glycerin, andere Ester und Seifen. Zum Nachweis der Ketone benutzte H. Schmalfuß den von K. Täufel und H. Thaler[10]) ausgearbeiteten Nachweis von Ketonen mit Salicylaldehyd in vereinfachter Form.

Die Bildung von Fettsäuren und die Molekülvergrößerung durch Polymerisation oder Kondensation beim oxydativen Abbau der Fette rufen ihre „Talgigkeit" hervor; durch die Bildung von Oxyfettsäuren erhöht sich der Schmelzpunkt, und die Fette erhalten eine talgige Beschaffenheit. Es können sich aber auch ungesättigte Anteile der Fette zu größeren Molekülverbänden verketten, wodurch ebenfalls eine Konsistenzänderung und damit eine geschmackliche Veränderung eintritt.

Auch der Abbau der Eiweißstoffe unserer Nahrungsmittel wird primär durch eine Hydrolyse eingeleitet, die eine Spaltung des Eiweißmoleküls in Polypeptide und weiter in Aminosäuren hervorruft. Die meisten Aminosäuren werden dann oxydativ unter Desaminierung in charakteristischer Weise zu Wasser, CO_2, NH_3, H_2S abgebaut. Die entstehenden Endprodukte sind

---

[8]) M. Stärkle, Biochem. Zeitg. **151**, 370/1924.
[9]) H. Schmalfuß, H. Werner, A. Gehrke, Marg. Ind. **25**, 1, 18, 20/1932. Marg. Ind. **26**, 1, 8, 9/1933.
[10]) K. Täufel und H. Thaler, Chem. Zeitg. **56**, 265/1932. Z. U. L. **74**, 119/1937.

für die einzelnen Nahrungsstoffe charakteristisch. Ammoniak tritt vor allem bei der Fischverderbnis auf, Schwefelwasserstoff bei lagernden Eiern, während im Fleisch verschiedene, z. T. giftige Amine entstehen können. Neben diesen chemischen Umwandlungen der Eiweißstoffe finden auch physikalische Veränderungen statt, die bei der Lagerhaltung von Nahrungsmitteln von Bedeutung sind. Die Entquellung des Eiweißes durch Austrocknung ist unter bestimmten Bedingungen reversibel, häufig führt sie aber auch zu einer Denaturierung des Eiweißes unter Veränderung der ursprünglichen Löslichkeit.

Diese chemischen und physikalischen Veränderungen der Nahrungsstoffe werden durch Einwirkung von Wasser, Gasen, Temperatur, Licht, Katalysatoren und Kleinlebewesen ausgelöst und der weitere Stoffabbau von ihnen beeinflußt und gesteuert. Die genannten Faktoren wirken also zum größten Teil in wertverminderndem Sinne, doch können eine Reihe von ihnen auch wertsteigernde Eigenschaften in den lagernden Erzeugnissen hervorrufen. Eine genaue Kenntnis der Wirkung der einzelnen Faktoren auf die Nahrungsstoffe bei der Lagerung ist daher für den Lebensmitteltechnologen unerläßlich.

Einen Einblick in den Umfang einer chemischen Umsetzung gewährt die mengenmäßige Erfassung der entstehenden Abbau- und Umsetzungsprodukte. Dabei müssen aus der Vielzahl der Umsetzungsprodukte, die bei lagernden Lebensmitteln und deren Rohstoffen in Erscheinung treten, einzelne charakteristische Bestandteile herausgegriffen werden. Das Ziel dieser Arbeit war es, durch die quantitative Bestimmung flüchtiger Stoffe einen Beitrag zur Kenntnis der Veränderungen von Nahrungsstoffen zu liefern. Zur Bestimmung „flüchtiger Stoffe" wurden einerseits wasserdampfflüchtige, oxydierbare Verbindungen, andererseits flüchtige Schwefelverbindungen nach ihrer Abspaltung aus Eiweißkörpern herangezogen.

Zur Bestimmung wasserdampfflüchtiger Stoffe wurde zunächst die von R. Strohecker, R. Vaubel und A. Tenner[11]) beschriebene Titration flüchtiger Stoffe mit Kaliumpermanganatlösung herangezogen, ein Verfahren, das darauf beruht, mittels Wasserdampfs eine bestimmte Menge flüchtiger Bestandteile abzudestillieren und das Destillat durch Kochen mit

---

[11]) R. Strohecker, R. Vaubel, A. Tenner, Fette und Seifen, **44**, 246/1937.
R. Strohecker, R. Vaubel, H. Kirchberg, Z. f. Analyt. Chem. **110**, 1 + 2, 1937

Kaliumpermanganatlösung zu oxydieren. Der mengenmäßige Verbrauch dieses Oxydationsmittels und die Festlegung eines „Oxydationswertes" sollte die übergehenden unbekannten Verbindungen charakterisieren. Die „Oxydierbarkeit" oder der Verbrauch an Kaliumpermanganatlösung ist also ein Ausdruck für den Gehalt des Destillates an oxydierbaren organischen Stoffen.

Bei den weiteren Untersuchungen wurde als Oxydationsmittel eine Hypochloritlöung verwendet, deren mengenmäßiger Verbrauch als „Chlorzahl" festgelegt wurde. Die Wirkung dieser Javellschen Lösung beruht einmal in einer Oxydation flüchtiger Stoffe, zum anderen aber möglicherweise in einer teilweisen chemischen Anlagerung von Chlor. Die ermittelten Zahlen sind ein Ausdruck für die Oxydierbarkeit der S u m m e der übergehenden Stoffe. Durch die Anwendung des Verfahrens dürften vor allem reduzierende Stoffe (Aldehyde, Ketone) und niedermolekulare Fettsäuren erfaßt werden. Diese Stoffe entstehen vorwiegend beim Abbau der Fette und Eiweißstoffe. Eine genaue Begrenzung und Charakterisierung einzelner Abbauprodukte aus Fetten oder Eiweißstoffen ist also durch die Erfassung wasserdampfflüchtiger Stoffe nur schwer möglich.

Die Bestimmung flüchtiger Stoffe sollte einen Einblick in die Veränderungen geben, die vor allem die Eiweißstoffe durch chemische, physikalische oder biologische Einflüsse erfahren. Die beim Eiweißabbau auftretenden Stoffe sind so verschiedenartig, daß kein allgemein gültiges Nachweisverfahren („Verdorbenheitsreaktion") für Eiweißstoffe ausgearbeitet werden konnte. Um den Grad der chemischen Umwandlung von Eiweißstoffen erkennen zu können, muß man also aus den zahlreichen Abbauprodukten einen charakteristischen Bestandteil herausgreifen.

In der vorliegenden Arbeit soll die Bestimmung flüchtiger S c h w e f e l v e r b i n d u n g e n nach ihrer Abspaltung aus Eiweißstoffen einen Zusammenhang zwischen den Veränderungen der Nahrungsstoffe und ihrer chemischen Zusammensetzung aufzeigen; dabei soll die Bedeutung des Schwefels im Eiweiß für diese Reaktionsvorgänge und in Abhängigkeit von der Menge und Art seiner Bindung besonders herausgestellt werden.

Schwefel kommt in den Eiweißverbindungen vieler tierischer und pflanzlicher Naturstoffe vor; in stärkerem Maße enthalten die plasmareichen jungen Zellen der Vegetationspunkte schwefelhaltige Verbindungen. Wenn man die Vegetationspunkte von Wurzeln mit Kalilauge anfeuchtet und dann mit Nitroprussidnatriumlösung benetzt, so färben sich die Spitzenzonen intensiv rot, während die meristematischen Zonen unverändert bleiben.

Diese Beobachtung gilt für die Spitzen normaler Wurzeln, die Enden der Stengel, die Sporen und Pollenkörner, d. h. für solche Gewebeteile, in welchen sich Wachstumsvorgänge abspielen. Auch im tierischen Gewebe beweist die Anhäufung von S-haltigen Stoffen an solchen Stellen, wo Fortpflanzung und Entwicklung in der ersten Zeit der jungen Generation einsetzt, die Wichtigkeit dieser S-Verbindungen. Sie sind als „integrierende" Bestandteile der Zelle zu betrachten. Soweit bekannt ist, enthalten die pflanzlichen Eiweißstoffe stets unter 2% Schwefel, die tierischen können über 5% aufweisen. Schwefelfrei scheinen die Protamine zu sein. C. Osborn[12]) gibt für das Edesin 0,88%, für das Excelsin 1,08% Legumin 0,38%, Gliadin 1,02%, Hordein 0,84%, Zein 0,6% Hundeblutoxyhämoglobin 0,56%, Ovalbumin 1,16%, Ovovitellin 1,02% und Kuhmilchkasein 0,8% Gesamtschwefel an.

Besonders reich an Schwefel sind das Cystin und Cystein, das Glutathion und das Methionin, welchen besondere Aufmerksamkeit im Verlauf der Arbeit geschenkt werden soll.

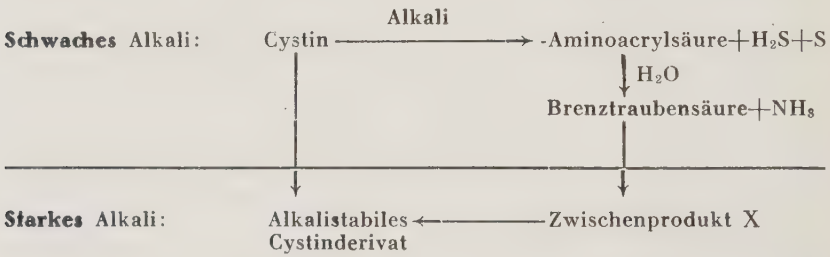
Cystein α-Amino-β-thio-propionsäure. Es bildet mit Cystin ein reversibles Oxydoreduktionssytem und geht durch Oxydation besonders leicht bei Gegenwart von Schwermetall in die Disulfidform des Cystins über. Umgekehrt läßt sich aber das Cystin durch Reduktion wieder in Cystein zurückverwandeln; dieser Übergang der Sulfhydrilform R-SH in die Disulfidform R-S-S-R und umgekehrt ist ein Reaktionsvorgang, dem in Verbindung mit anderen ähnlichen reversiblen Systemen auch bei den Atmungsvorgängen eine gewisse Bedeutung zugeschrieben wird.

Das Cystin, α-Diamino-β-dithiodilaktylsäure, kommt besonders reichlich in den Hornsubstanzen der Epidermis vor; es findet sich auch bei Cystinurie in größeren Mengen im Harn, scheint aber auch ein normaler Bestandteil des Harns zu sein. Durch eine biologische oxydative Umwandlung der Sulfhydrilgruppe des Cystins zur Sulfogruppe mit gleichzeitiger Decarboxylierung entsteht aus dem Cystein das Taurin; als Zwischenstufe tritt dabei Cysteinsäure auf. Durch Schwefelabspaltung erhielt I. Mauthner[13]) aus Cystein Alanin, durch Kohlensäureabspaltung C. Neuberg[14]) und E. Arscher Aminoäthandisulfid. E. Friedmann[15]) konnte durch Desaminierung aus Eiweißcystin Thiomilchsäure erhalten. Bei der Einwirkung von Alkalien (Natrium-

---

[12]) C. Osborn, Journ. American. Chem. Soc. **24,** 140/1933.
[13]) I. Mauthner, Z. f. phys. Chem., **78,** 28/1912.
[14]) C. Neuberg und E. Arscher, Biochem. Z. **5,** 451/1907.
[15]) E. Friedmann, Hoffmeisters Beiträge. **8,** 326/1906

hydroxyd) auf Cystin werden nach I. B. Clifford[16]) und R. A. Gortner Stickstoff und Schwefel in aequimolekularen Mengen abgespalten, und zwar durch stärkere Natronlauge weniger als durch schwächere. Durch Zugabe von 4/n Natronlauge wird das Cystin bei 12stündigem Kochen nur zu etwa 35% zerstört, es ist also stabiler, als bisher angenommen wurde. Dabei sind aber die primären Reaktionsprodukte: Cystein (das beständiger gegen Alkali ist als Cystin), Schwefelwasserstoff, Ammoniak, Brenztraubensäure, Oxal- oder Ameisensäure nicht die hemmenden Faktoren für den weiteren Angriff des Alkalis. Die Verfasser nehmen an, daß sekundär ein noch unbekanntes Zwischenprodukt X entsteht, das Cystin „stabilisieren" kann und stellen den bei der Einwirkung von Alkali einsetzenden Reaktionsablauf folgendermaßen dar:



Über die Entstehung von H_2S, Methylmerkaptan und Aethylsulfid liegen einige, allerdings dürftige Angaben vor. Zuerst wiesen E. und H. Salkowski[17]) auf das Vorkommen von flüchtigen organischen Schwefelverbindungen bei der Eiweißfäulnis hin; dabei tritt durch die Einwirkung des Bazillus liquefaciens magnus Methylmerkaptan auf, das nach M. Nenki und M. Sieber[18]) ein regelmäßiger Bestandteil der Dickdarmgase zu sein scheint.

Die eingehendsten Ermittlungen über den Abbau der S-haltigen Verbindungen im Eiweiß verdanken wir M. Rubner[19]) und seinen Schülern. Mit Palladiumchlorid und Isatinschwefelsäure konnten sie beim Kochen von Wirsingkohl, Blumenkohl und Rosenkohl neben H_2S Methylmerkaptan nachweisen. Beim Genuß von Spargel, Rot- und Blumenkohl tritt Methylmerkaptan auch

[16]) I. B. Clifford und R. A. Gortner, Chem. Zentralbl. **1**, 2803/1933.
[17]) E. und H. Salkowski, Ber. **12**, 651/1879.
[18]) M. Nenki u. M. Sieber, Monatshefte f. Chem. **10**, 526/1889.
[19]) M. Rubner, Arch. f. Hyg. **19**, 136/1893.

im Harn auf. Aus Untersuchungen von J. Abel[20]) weiß man, daß sich beim Erhitzten von Hundeharn mit Kalkmilch oder Aetzkali Aethylsulfid entwickelt. Überraschenderweise entsteht auch bei der Zersetzung mit Salzsäure nach R. Drechsel[21]) eine dem Aethylsulfid ähnliche Substanz. Die Zusammenhänge der Entstehung gasförmiger S-haltiger Stoffwechselprodukte aus Eiweißverbindungen bei saurer und alkalischer Aufspaltung klärte J. Wohlgemuth[22]) durch künstliche Fäulnisversuche auf, deren Ergebnisse erkennen lassen, daß das Cystein der Ausgangsstoff zur Bildung von H_2S, Methylmerkaptan und Aethylsulfid ist. Frühere Versuche zeigten schon, daß auch die Sulfate, der nichtoxydierte Schwefel und die unterschwefligsauren Salze des Harns von cystinhaltigem Eiweiß herrühren.

Neben dem Cystin ist das Methionin ein Hauptbestandteil der S-haltigen Eiweißstoffe. Es ist eine α-Amino-γ-methylthiobuttersäure. A. E. Scharpenack[23]) und G. P. Jeremin geben den Methioningehalt der Nahrungsproteine in Prozenten des Gesamteiweißgehaltes in folgender Größenordnung an: Fleisch 1,05%, Hühnereiweiß 3,09%, Eigelb 2%, Gesamtei 2,5%, Fisch 3,25%, Milch 3,11%, Erbsen 0,8%.

Das in diesem Zusammenhang wichtige Glutathion ist ein Tripeptid aus Glutaminsäure, Cystein und Glykokoll. Es wurde in der Mehrzahl der tierischen und pflanzlichen Gewebe nachgewiesen und ist meistens in dem Redoxsystem Cystin — Cystein eingeschaltet. Im Gewebe liegt anscheinend, abhängig von den Oxydationsvorgängen und dem Säuregrad der Umgebung, das Glutathion entweder in der Sulfhydril- oder in der Disulfidform vor, und beide können mit Leichtigkeit ineinander übergehen. Die Oxydation zur Disulfidform erfolgt bei saurer Reaktion, die Reduktion zur Sulfhydrilform dagegen in alkalischem Bereich. Wegen dieser Eigenschaft kommt auch dem Glutathion eine Bedeutung bei den Atmungsvorgängen im Gewebe zu, wenn auch über die Art seiner Wirkung die Meinungen sehr auseinandergehen. Manche Tatsachen sprechen dafür, daß dieses System so eng mit der Wirkungsweise der Enzyme verknüpft ist, daß man es zu den Co-Enzymen zählen könnte.

---

[20]) J. Abel, Z. f. phys. Chemie, **20**, 253/1893.
[21]) R. Drechsel, Z. f. phys. Chem. **10**, 595/1896.
[22]) J. Wohlgemuth, Z. f. phys. Chem. **43**, 469/1904.
[23]) A. E. Scharpenack u. G. P. Jeremin, Problems Nutrit **4**, 11/1935.

Die Arbeiten von F. G. Hopkins und E. R. Morgan[24]) zeigen, daß das Glutathion die Ascorbinsäure vor der Oxydation schützt, indem es selbst „primär" oxydiert wird. Oxydiertes Glutathion kann unter verschiedenen Bedingungen mehr oder weniger vollständig zur Sulfhydrilform reduziert werden, es kann also als Wasserstoffüberträger wirksam sein. Da es aber leicht in die Disulfidform übergehen kann, kommt ihm bei dem häufigen Auftreten im tierischen und pflanzlichen Organismus bei den Oxydo-Reduktionsvorgängen eine besondere Bedeutung zu. Reduziertes Glutathion wirkt nach den Untersuchungen von K. Lohmann[25]) als Co-Ferment der Glyoxalase, indem es die Umwandlung des Methylglyoxals in Milchsäure katalytisch beeinflußt. Nach S. Yamazoye[26]) entsteht zwischen Methylglyoxal und Glutathion ein instabiles Halbmerkaptal, das als Substrat bei der Milchsäurebildung dient.

Auch eine Reihe von bemerkenswerten Beobachtungen über die „Aktivierung" von proteolytischen Enzymen durch Glutathion ist bekannt. Als erster beschrieb R. Willstätter die Aktivierung des Papains und E. Waldschmidt-Leitz diejenige des Kathepsins durch Glutathion; auch die Zookinase der tierischen Organe und die Phytokinase der Hefeproteinase scheint mit Glutathion identisch zu sein. Von allgemeinem Interesse ist weiterhin die Beobachtung, daß die Enzyme Kathepsin, Papain, ferner Urease und vielleicht auch andere Proteinasen und Karbaminasen selbst eine SH-Gruppe im Molekül tragen. Th. Bersin[27]) berichtet, daß bei Papain die Anzahl der SH-Gruppen bei wirksamem Enzym ein Gradmesser für die Aktivität zu sein scheint, so daß der aktivierende Einfluß, welchen das Glutathion auf diese SH-haltigen Enzyme ausübt, so gedeutet werden kann, daß die durch Oxydation zur S-S-Verbindung inaktivierten Enzyme wieder zu Sulfhydrilen reduziert werden können. W. Graßmann[28]) stellte fest, daß die in Papain-Präparaten vorkommenden schwefelhaltigen Aktivatoren zum größten Teil aus Cystin bezw. Cystein und Glutaminsäure aufgebaut sind; auch Arginase scheint durch Cystein in aktivierendem Sinne beeinflußbar zu sein.

---

[24]) F. G. Hopkins und E. J. Morgan, Biochem. Zeitsch. **285**, 407/1936.
[25]) K. Lohmann, Biochem. Z. **254**, 321/1392.
[26]) S. Yamazoye, J. of Biochem. Japan **83**, 319/1932.
[27]) Th. Bersin, Z. f. phys. Chemie, **222**, 177/1933.
[28]) W. Graßmann, Biochem. Z. **279**, 131/1935.

Die Bedeutung dieser beschriebenen Stoffe und Stoffgemische als Hilfsstoffe oder Aktivatoren unter den Vermittlern des Stoffumsatzes geht aus diesen Ausführungen hervor.

Zweck und Ziel dieser Arbeit war es also, zur Kenntnis flüchtiger Stoffe in Nahrungs- und Genußmitteln beizutragen und durch deren Bestimmung Einblick zu bekommen in die Veränderungen, die diese Stoffe durch chemische, biologische oder physikalische Einflüsse erfahren. Die genaue Kenntnis dieser natürlichen Veränderungen und Zerfallserscheinungen bietet die Möglichkeit, wirksame Maßnahmen zu treffen, um das Verderben von Nahrungsstoffen zu verzögern oder zu verhindern.

B. Eigene Versuche.

I. Kolorimetrische Bestimmung von flüchtigen Schwefelverbindungen

1. Ausarbeitung eines Nachweis- und Bestimmungsverfahrens.

Zur Bestimmung flüchtiger Schwefelverbindungen mußte ein Verfahren gefunden werden, das selbst bei sehr geringen Mengen noch hinreichend genau arbeitet und leicht und schnell anwendbar ist.

Bekannt war die Methode von J. Tillmans[1]) zur Bestimmung von Schwefelwasserstoff in Abwässern, die kolorimetrische Bestimmung von flüchtigem Schwefel in Proteinstoffen von K. Theobald[2]) und die von H. Tojoda[3]) angegebene Mikromethode zur Bestimmung von Disulfid und Sulfhydril.

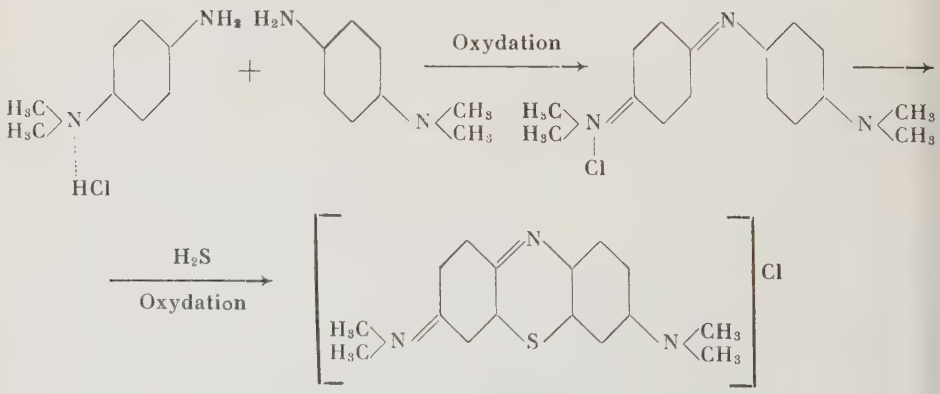
Nach Tojoda wird die Probe so ausgeführt, daß die zu untersuchende Lösung in einem 500 ccm-Meßzylinder mit 50 mg reinem zinkpulver, dann sofort langsam mit 7,5 ccm der Dimethyl-p-phenylendiaminhydrochloridlösung, dann vorsichtig mit 0,5 ccm der Ferriammonsulfatlösung versetzt wird. Mit schwefelfreiem Wasser wird auf 20, 25 oder 50 ccm verdünnt und 12 Stunden beiseitegestellt. Als Vergleichslösung ergänzt man 0,3 oder 0,6 ccm der Cystinlösung mit Wasser auf 20 ccm.

---

[1]) J. Tillmans, Chem. Untersuch. v. Wasser u. Abwässern.
[2]) K. Theobald, Inauguraldiss. Frankfurt a. M. 1937.
[3]) H. Tojoda, Bull. Chem. Soc. Japan' **9**, 263/1934.

Diese Methode wurde auf ihre Verwendbarkeit für unsere Zwecke geprüft. Es wurde festgestellt, daß die durch die Entwicklung von Wasserstoff entstehenden Luftbläschen, die ungenügende Intensität der Färbung und der langsame Reaktionsverlauf eine schnelle stufenphotometrische Bestimmung von flüchtigem Schwefel nicht zulassen.

Zum qualitativen Nachweis von Schwefelwasserstoff in Abwässern wird nach J. Tillmans Paramidodimethylanilin (Dimethyl-p-phenylendiamin) allmählich bis zur Lösung mit kleinen Mengen verdünnter Schwefelsäure versetzt. Einige Tropfen dieser Lösung fügt man in einem Becherglas zu verdünntem Schwefelwasserstoffwasser, dem 1/50 seines Volumens konzentrierte Salzsäure zugegeben wurde. Wenige Tropfen verdünnte Eisenchloridlösung zu dieser Mischung ergeben eine intensive Blaufärbung. Die Methode beruht auf der Oxydation von asym. Dimethyl-p-phenylendiamin und Schwefelwasserstoff mit Ferrichlorid. Dabei bildet sich intermediär ein Indammoniumsalz (Binschedlers Grün), welches sich hierauf mit dem Schwefelwasserstoff zum Thiazinfarbstoff (Methylenblau) kondensiert. Die Kupplung geschieht in salzsaurer Lösung.



Diese Farbstoffreaktion, die auch kleinste Mengen von Schwefelwasserstoff zu erkennen gestattet, kann auch zur technischen Darstellung von Methylenblau dienen. Die Reinheit, Lichtbeständigkeit und Echtheit von Methylenblau-Lösungen bedingen ihre Verwendbarkeit zu kolorimetrischen Messungen. K. Theobald übernahm dieses Verfahren und erweiterte es zur einfachen kolorimetrischen Bestimmung von flüchtigem Schwefel in Protein-

stoffen. Er bestimmt den durch Abspaltung mit Natronlauge erhaltenen Schwefel durch Zugabe von 1 ccm einer 0,5%igen Paramidodimethylanilinlösung in konzentrierter Salzsäure und 1 ccm einer 5%igen Eisenchloridlösung zu 10 ccm der zu untersuchenden Lösung. Die Auswertung der entstandenen Färbung geschieht durch Zugabe von wechselnden Mengen einer 0,1%igen Natriumsulfidlösung zu 10 ccm der von Schwefelwasserstoff befreiten Eiweißlösung, die noch Eisenchlorid und Farbstofflösung in der erwähnten Konzentration enthält. Durch kolorimetrischen Vergleich der entstandenen Methylenblaulösung von bekanntem Gehalt mit der zu untersuchenden Lösung wird der Schwefelgehalt rechnerisch ermittelt.

Diese Versuchsanordnung hat den Nachteil, daß die Abspaltung des Schwefels in der gleichen Lösung geschieht, in der auch die kolorimetrische Bestimmung des Schwefelgehaltes vorgenommen wird. Das Auftreten von Trübungen und störenden Stoffen ist dabei nicht zu vermeiden und schließt eine einwandfreie Farbbeurteilung aus. Ferner hat die Standardlösung von bekanntem Schwefelgehalt nur eine beschränkte Haltbarkeit und muß öfters neu hergestellt werden. Darüber hinaus ist die Ausführung einer einfachen kolorimetrischen Messung von der Farbtüchtigkeit des Beobachters und der individuellen Festlegung des Begriffes „Farbgleichheit" abhängig.

Somit ergab sich die Aufgabe, diese Nachteile der sonst brauchbaren Methode von J. Tillmans für schnelle und exakte Messungen auf stufenphotometrischer Grundlage auszuarbeiten. Ermittlung eines geeigneten Oxydationsmittels. Die meisten Schwierigkeiten bei der Ausarbeitung eines Bestimmungsverfahrens ergaben sich in der Ermittlung eines geeigneten Oxydationsmittels. Die stufenphotometrische Auswertung der Methylenblaufärbung erfordert die Anwendung eines lichtbeständigen Oxydationsmittels von genügender Oxydationskraft und geringer Eigenfärbung.

K. Theobald verwendet bei seinen Versuchen 1 ccm einer 5%igen Eisenchloridlösung. Da erfahrungsgemäß aber die Eigenfärbung solcher Lösungen für stufenphotometrische Messungen zu stark ist, wurde versucht, die Gelbfärbung durch geringere Mengen des Oxydationsmittels herabzusetzen. Es zeigte sich aber, daß derart hergestellte Methylenblaulösungen nur kurze Zeit haltbar sind und dann in der Farbintensität nachlassen. Außerdem war zu befürchten, daß bei Anwendung der Methode zur Bestimmung von flüchtigem Schwefel in organischem Material das Oxydationsmittel nicht mehr ausreichen würde, um größere Mengen

Schwefelwasserstoff und Farblösung zu Methylenblau oxydieren zu können.

Versuche, Eisenchlorid durch andere farblose Oxydationsmittel wie Wasserstoffsuperoxyd, Bleidioxyd, Bariumsuperoxyd zu ersetzen, hatten keinen Erfolg. Ein genauer Zusatz dieser Mittel wäre schwer gewesen, darüber hinaus traten durch Zugabe dieser festen Körper Trübungen auf, die einen Farbvergleich unmöglich machten. Die Schwerlöslichkeit dieser Oxydationsmittel verhinderte ihre Zugabe als Lösung; auch der Zusatz von Spuren Nickel, Kupfer und Platin als Katalysatoren führten nicht zum Ziel.

Erst die Anwendung einer lichtbeständigen Eisenchloridlösung ermöglichte die einwandfreie Ausführung der Reaktion. C. Urbach[4]) erwähnt die Herstellung einer lichtechten Eisenchloridlösung nach Reißner, wonach 80 ccm ausgekochte 10-%ige Salpetersäure mit 40 ccm normaler Eisenchloridlösung und 40 ccm Wasser gemischt werden. Der Zusatz von Salpetersäure gibt der Lösung die Lichtbeständigkeit und hat außerdem den Vorteil, als Oxydationsmittel die Wirkung des Eisenchlorid zu verstärken und ermöglicht dadurch, mit einer geringen Menge Reißner-Ansatz die Reaktion durchzuführen. Die Eigenfärbung der Lösung wird dadurch stark herabgedrückt.

Eine Reihe von Versuchen diente zur Ermittlung der günstigsten Eisenchloridkonzentration. Sie ergaben, daß 1 ccm einer Mischung von 10 ccm Reißner-Ansatz und 90 ccm Wasser vollständig ausreichten, um eine Oxydation zu Methylenblau bei den in der Praxis zu erwartenden Schwefelmengen quantitativ durchzuführen. Ebenso erwies sich 1 ccm einer Lösung von 0,5 g Dimethyl-p-phenylendiamin in 100 ccm konz. Salzsäure als ausreichend. Der Reaktionsansatz zeigte in dieser Konzentration geringe Eigenfärbung und stellte ein hinreichend kräftiges Oxydationsmittel dar.

Auswahl des geeigneten Filters. Um die Auswahl des geeigneten Farbfilters zu treffen, wurde die Lichtintensität einer durch Destillation von Ei erhaltenen Lösung durch nacheinanderfolgende Anwendung der 8 Farbfilter gemessen. Überlegungsgemäß konnte nur ein Filter tauglich befunden werden, in dessen Absorptionsbereich die Untersuchungsflüssigkeit wenig Licht durchläßt. Die ermittelten Werte zeigen, daß das Filter S. 61 die größte Lichtabschwächung aufweist, wodurch sich bei einer

[4]) C. Urbach, Biochem. Z. **237**, 189/1931.

Änderung des Schwefelgehaltes die größte Trommelverschiebung ergeben muß.

Tabelle 1.

Werte für die Auswahl des geeigneten Filters.

Filter	D. %
S 61	42
S 57	68
S 53	81
S 50	85
S 47	88
S 43	93
S 75	70
S 72	66

Lichtbeständigkeit der Methylenblaulösung. Um die Einwirkung des Tageslichtes auf die Färbung und die Zeitdauer bis zur Erreichung des Maximums der Lichtintensität zu prüfen, wurde eine durch die gleiche Destillation hervorgerufene Färbung in Abständen von 10 Min. über eine längere Zeit hin gemessen; dabei zeigte sich, daß das Maximum der Färbung nach 20 Min. erreicht wird, das für mehrere Tage unverändert bleibt. Die Auswertung der Farblösung am Stufenphotometer kann frühestens nach 20 Min. erfolgen.

Tabelle 2.

Einfluß des Tageslichtes auf Methylenblaulösungen.

Zeitdauer der Färbung	D. %
10 Minuten	47
20 „	46
30 „	46
40 „	46
60 „	46
18 Stunden	46
24 „	46
72 „	46

Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes. Um die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes für Methylenblaulösungen bekannten Gehaltes zu beweisen, wurden in Lösungen verschiedenen Schwefelgehaltes Messungen vorgenommen. Zur Herstellung einer Ausgangslösung wurden aus 50 ccm

einer Eilösung eine größere Menge Destillat angefertigt und zu 1 ccm Farblösung + 1 ccm verdünnter Reißner-Lösung von 5 ccm auf 25 ccm steigende Mengen dieses Destillates gegeben und auf ein Gesamtvolumen von 30 ccm gebracht. Als Vergleichslösung diente bei diesen und allen weiteren Versuchen eine Mischung von 1 ccm einer 0,5%igen Dimethyl-p-phenylendiaminlösung und 1 ccm verdünnter Reißner-Lösung in 28 ccm Wasser. Dadurch wird der Einfluß der Eigenfärbung der Lösung ausgeschaltet.

Da nach dem Lambert-Beerschen Gesetz die Farbintensität bei gleicher Schichtdicke proportional zur Konzentration steigt und fällt, müßten die Werte für den Extinktionskoeffizienten K eine der Gehaltsvermehrung entsprechende Zunahme erfahren. Voraussetzung ist der gerade Verlauf der Kurve, wenn die ermittelten Zahlen in ein graphisches System eingetragen werden. Der Verlauf der vorliegenden Kurve beweist die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes für Methylenblaulösungen. Tabelle 3 zeigt die Werte für die Aufstellung der Kurve.

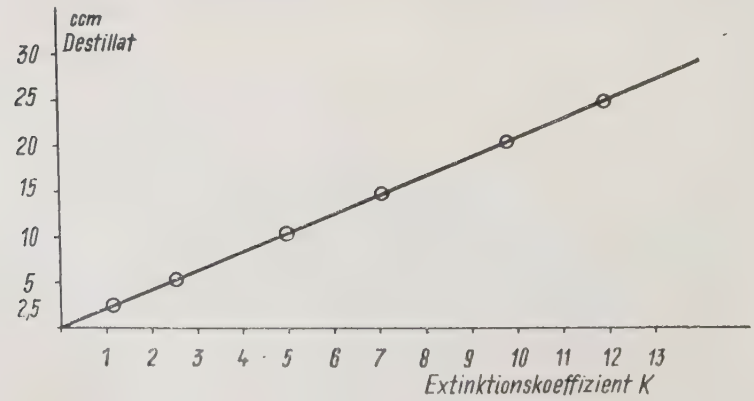
Tabelle 3 zu Abb. 1.

Kurvenwerte für die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes.

Menge des Destillates ccm	Extinktionskoeffizient K
2,5	0,12
5,0	0,25
10,0	0,50
15,0	0,70
20,0	0,95
25,0	1,19

Abb. 1.

Kurve für die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes.

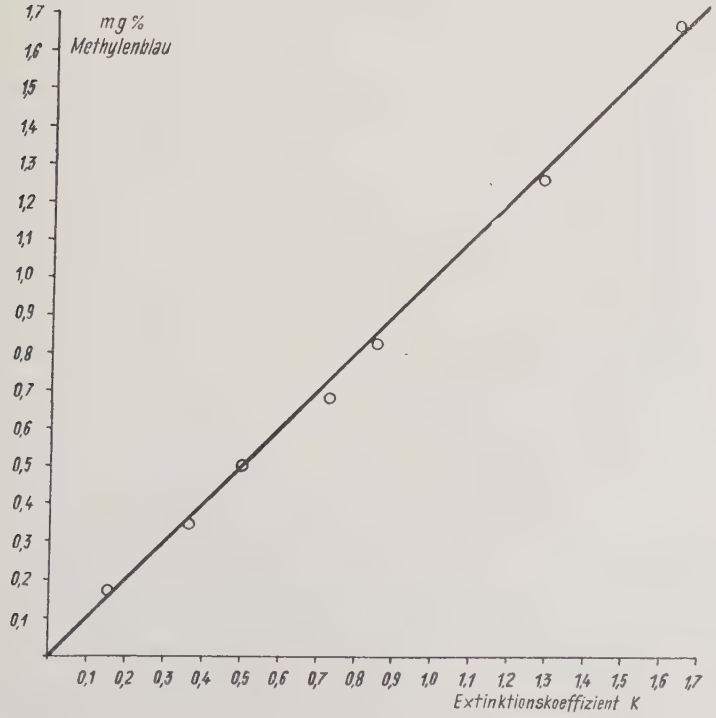


Aufstellung einer Eichkurve und einer Eichtabelle für die Berechnung des Schwefelgehaltes. Der Gehalt einer Lösung an Schwefelverbindungen kann dadurch ermittelt werden, daß mit einer Methylenblaulösung von bekannter Konzentration Färbungen hervorgerufen werden, deren Lichtdurchlässigkeit bezw. Extinktionskoeffizienten am Stufenphotometer bestimmt werden.

In einem Meßzylinder versetzt man 1 ccm Farblösung und 1 ccm Reißner-Ansatz mit steigenden Mengen einer Methylenblaulösung bekannten Gehaltes und füllt auf 30 ccm auf. Wie aus den Abbildungen 2 und 3 ersichtlich ist, geben die bei der Bestimmung ermittelten Extinktionskoeffizienten unmittelbar den Gehalt an Methylenblau in $mg^{0}/_{0}$[5]) an. Da das Molekulargewicht von Schwefel 10mal kleiner als das des Methylenblaumoleküls ist, ergeben sich durch Division der durch Messung der Färbung erhaltenen Extinktionskoeffizienten mit der Zahl 10 unmittelbar die Werte für Schwefel in $mg^{0}/_{0}$.

Abb. 2.

Eichkurve für Methylenblaufärbungen verschiedener Konzentrationen.



[5]) $mg^{0}/_{0}$ Methylenblau in 100 ccm.

Tabelle 4 zu Abb. 2 und 3.

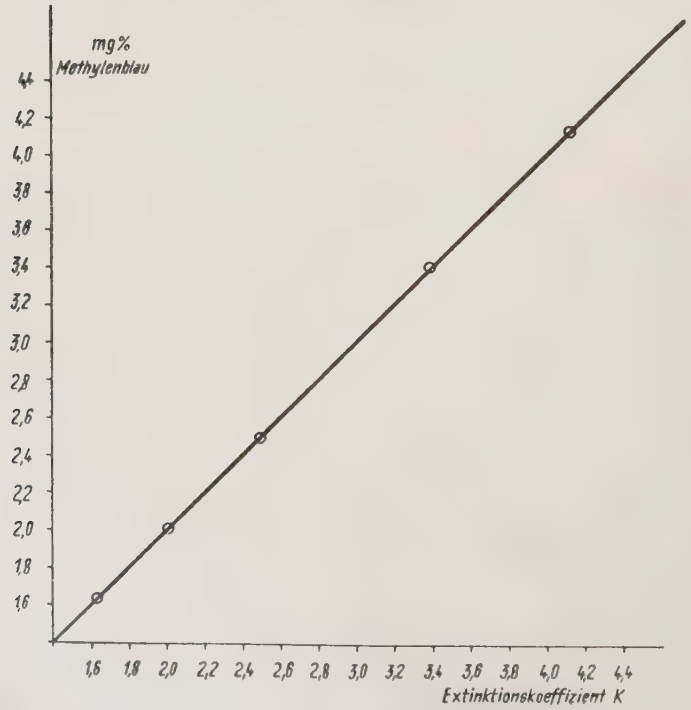
Werte zur Aufstellung der Eichkurve.

Angewandte Flüssigkeitsmenge: 100 ccm

Zugesetzte Menge Methylenblau mg%	Schichtdicke d. Küvette mm	D. %	Extinktionskoeffizient, auf 10 mm Küvette bezogen
0,17	20	46,5	0,166
0,33	10	43,5	0,361
0,50	5	56,0	0,503
0,66	5	44,0	0,739
0,83	2,5	61,5	0,844
1,25	2,5	47,5	1,293
1,66	1,02	68,5	1,643
2,08	1,02	60,5	2,182
2,50	1,02	56,0	2,518
5,30	1,02	45,0	3,640
4,16	1,02	38,0	4,120

Abb. 3.

Eichkurve für Methylenblaufärbungen verschiedener Konzentrationen.



Um die Tillmanssche Methode zur Bestimmung von lose gebundenen Schwefelverbindungen für stufenphotometrische Messungen anwenden zu können, mußte ein Oxydationsmittel von geringer Eigenfärbung, genügender Oxydationskraft und Lichtbeständigkeit ermittelt werden. Die erhaltene Methylenblaufärbung wurde auf ihre Verwendbarkeit zur kolorimetrischen Bestimmung überprüft und so durch Festlegung einer Eichkurve unter Berücksichtigung des geeigneten Farbfilters und in Abhängigkeit der Lichtbeeinflussung die Grundlage zur stufenphotometrischen Auswertung gesichert.

Das Verfahren ist einfach und schnell ausführbar, und da selbst Schwefelmengen bis zu 10 γ noch mit Sicherheit erfaßt werden können, ist die Möglichkeit gegeben, flüchtige Schwefelverbindungen in organischen Stoffen der verschiedensten Art anhand dieses Verfahrens ohne großen Zeitaufwand zu erfassen.

2. Bestimmung flüchtiger Schwefelverbindungen.

a) in tierischen Stoffen.

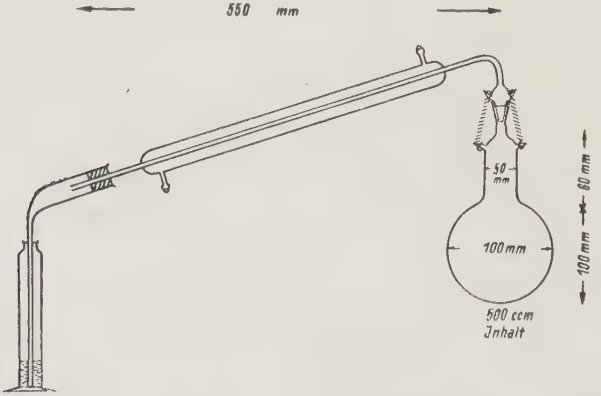
Mit dem vorstehend beschriebenen Verfahren wurden nun bei einer Reihe von tierischen und pflanzlichen Stoffen, die in der Ernährung des Menschen von Wichtigkeit sind, Bestimmungen der leicht abspaltbaren flüchtigen Schwefelverbindungen vorgenommen. Sie hatten zum Ziel, eine durch verschiedene Ursachen bedingte Veränderung in der Zusammensetzung der Eiweißstoffe und damit auch in der Gesamtbilanz des flüchtigen Schwefels zu zeigen.

Die Bestimmung der in einer Substanz vorhandenen gesamtflüchtigen Schwefelverbindungen erfordert ein langes und intensives Erwärmen, wodurch eine weitgehende Aufspaltung der schwefelhaltigen Eiweißstoffe eingeleitet wird. Mit den beschriebenen Versuchen konnte also nur der unter den geschilderten Versuchsbedingungen erhältliche flüchtige Schwefel ermittelt werden.

Die Abspaltung des Schwefels wird so vorgenommen, daß die zu untersuchende Lösung in einen Destillationskolben gebracht und der Schwefel in eine Vorlage übergetrieben wird, in der sich die Farblösung und das Oxydationsmittel befindet. Der Destillationsapparat besteht aus einem Destillierkolben von 500

ccm Inhalt, der durch einen Schliffansatz mit dem Kühler verbunden ist; daran schließt sich ein zu einem engen Rohr ausgezogener Vorstoß an, der bis auf den Boden eines 30 ccm-Meßzylinders reicht. Die Ausmaße der Apparatur sind in nachstehender Zeichnung eingetragen.

Zeichnung der Apparatur.



Durch Eintauchen des Vorstoßes in die Vorlageflüssigkeit wird jeder Verlust an übergehenden flüchtigen Schwefelverbindungen vermieden. Zur leichteren Abspaltbarkeit ist bei manchen Substanzen eine Zugabe von Natronlauge nötig, deren Menge von Fall zu Fall bestimmt werden muß. Die Einwaage richtet sich nach den zu erwartenden Mengen flüchtiger Schwefelverbindungen und muß im orientierenden Versuch ermittelt werden. Um ein starkes Schäumen zu verhinden, wurde der obere Teil des Destillierkolbens so stark erweitert, daß in ihm der aufsteigende Schaum sich abkühlt und zusammenfällt. Verluste durch Spritzen konnten durch Anbringung eines losen Glaswollepfropfens im oberen Teil des Kühlers verhindert werden. Vor Beginn der Versuche muß die Apparatur bei abgestellter Kühlung einige Minuten mit Wasserdampf durchgespült werden.

Die Destillation ließ sich bei einigen Stoffen nicht ohne Eiweißfällungsmittel durchführen. Ein Zusatz von Gerbsäure und dialysierter Eisenoxydlösung war unwirksam, desgleichen ein Zusatz von Seifenlösung. Dagegen konnte durch Zugabe von wechselnden Mengen Paraffin das Schäumen fast völlig unterbunden werden. Eine gewisse Schwierigkeit ergab sich (wie das Abweichen der experimentellen Werte der Paralleluntersuchungen

bewies) trotz der Einhaltung stets gleichmäßiger Destillationsbedingungen besonders bei der Wärmezufuhr. Bei Stoffen mit einem hohen Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen müssen geringfügige, stellenweise Überhitzungen im Destillationsgefäß Fehlwerte herbeiführen; die Anwendung eines Öl- oder Sandbades konnte die Fehler nicht beseitigen. Auch die Benutzung einer elektrischen Heizplatte bewährte sich wegen der langen Anwärmzeit nicht. Am besten geeignet war eine dicke Asbestplatte. Um bei allen Versuchen die Gewähr der gleichmäßigen Bedingungen und damit die Sicherheit zu haben, daß immer der gleiche Anteil an flüchtigen Schwefelverbindungen übergeht, muß die Erhitzungsdauer so gewählt werden, daß die Zeit von Beginn des Erwärmens an bis zum Übergehen der ersten Menge Destillates immer gleich lang ist. Die Destillationsdauer wurde so befristet, daß nur der „locker" gebundene Schwefel erfaßt und eine weitgehende Aufspaltung der S-haltigen Verbindungen tunlichst vermieden wurde. Bei einiger Erfahrung ist es nicht besonders schwierig, diese für die Genauigkeit der Bestimmung wesentlichsten Voraussetzungen zu ermitteln und einzuhalten. Durch Zugabe von Glasperlen wurde ein Siedeverzug vermieden und ein gleichmäßiges Kochen der Lösung erreicht.

F l e i s c h. Zunächst wurde Fleisch auf die Menge der flüchtigen, lose gebundenen Schwefelverbindungen und auf die Veränderungen untersucht, die sich in der Abspaltbarkeit der ersteren bei der durch Kochen und Braten entstehenden Hitze ergeben.

Zunächst wurde wieder die zur Abspaltung günstigste Laugenkonzentration ermittelt. Es stellte sich heraus, daß mit 3 ccm 1%iger Natronlauge die intensivste Blaufärbung erzielt wird. Um das beim Destillieren von Fleisch auftretende Schäumen zu verhindern, wurden 2 g Paraffin zugegeben. Für die Untersuchungen kamen normale Fleischstücke ohne Fett zur Anwendung. Nach dem Zerkleinern in der Fleischmaschine mußte jeweils erst eine Wasserbestimmung vorgenommen werden, um die beim Braten und Kochen auftretenden Gewichtsverluste durch Umrechnung auf Trockensubstanz wieder auszugleichen; alle angegebenen Werte sind auf 100 g Trockensubstanz bezogen.

Das K o c h e n des Fleisches geschah auf zweierlei Arten. Einmal wurde das Fleisch mit kaltem Wasser angesetzt und dann eine Stunde lang unter Ersatz des verdampfenden Wassers gekocht; zum anderen wurde das Fleisch in siedendes Wasser eingelegt und ebenfalls die gleiche Zeit gekocht. Diese Art der Zubereitung wurde gewählt, um einen Überblick darüber zu bekommen, inwieweit durch die beim Einlegen des Fleisches in sieden-

des Wasser einsetzende Koagulation der Eiweißstoffe an der Außenschicht das Innere des Fleisches vor einer weiteren Auslaugung der S-Verbindungen geschützt wird.

Die Destillation der nach dem Kochen abgegossenen Brühe sollte zeigen, in welchem Maße diese Koagulationsschicht ein weiteres Auslaugen des Fleisches verhindert.

Das Braten des Fleisches wurde so vorgenommen, daß Fleischstücke von 100 g Gewicht in einer Pfanne über einer offenen Flamme im eigenen Saft gut durchgebraten wurden, so daß beim nachträglichen Zerkleinern in der Maschine keine rohen Fasern mehr sichtbar waren. Es wurde darauf geachtet, daß bei allen Fleischsorten der gleiche Röstgrad erhalten wurde.

Zur Pökelung des Fleisches wurden 150 g Schweinefleisch 12 Tage lang in eine Lösung von 24 g Kochsalz und 2 g Salpeter in 200 ccm Wasser gelegt und nach dieser Zeit Lake und Fleisch der Destillation unterworfen, um zugleich auch den Auslaugungsgrad der Lake zu ermitteln. Um einen Überblick über die vorliegende Gesamtmenge an flüchtigen Schwefelverbindungen und damit einen Vergleich für den Anteil der flüchtigen Schwefelverbindungen zu bekommen, wurden bei Rindfleisch Gesamtschwefelbestimmungen vorgenommen. Nach W. Denis[6]) werden 10 g feingemahlenes Fleisch mit 20 ccm einer Lösung von folgender Zusammensetzung versetzt und durch Eindampfen in einer Quarzschale der Schwefel in Sulfat übergeführt. Das Reagens besteht aus einer Lösung von 24 g Kupfernitrat, 25 g Natrium- und 10 g Ammonchlorid in 60 ccm Wasser. Diese Mischung muß jedesmal vor Gebrauch durch Erwärmen in Lösung gebracht werden.

Das Eindampfen bis zur Trockne geschieht langsam über einer kleinen Flamme, um einen Verlust an Sulfat zu vermeiden. Nach viertelstündigem Glühen wird die Asche mit 20 ccm verdünnter Salzsäure unter Erwärmen aufgelöst und unter Nachspülen mit heißem Wasser auf ein Filter gegeben. Das Filtrat wird zum Sieden erhitzt und mit 20 ccm 10%iger Bariumchloridlösung die Sulfatfällung vorgenommen.

Die Destillation wird so ausgeführt, daß 2,5 g Fleisch unter Zusatz von 3 ccm 1%iger Natronlauge und 2 g Paraffin mit Wasser auf 100 ccm ergänzt und davon 20 ccm Destillat gewonnen werden.

Es ist aus Tabelle 5 ersichtlich, daß Rindfleisch die höchsten Werte für flüchtige Schwefelverbindungen zeigt, dann folgen Kalbfleisch und Schweinefleisch. Bei allen Fleischarten ist ein

[6]) W. Denis, J. Biol. Chem. 8, 401/1926.

fast gleichmäßiges Ansteigen der Werte durch Temperaturerhöhung festzustellen. Mit Ausnahme von Kalbfleisch ist bei allen Fleischarten die pyrogene Zersetzung beim Braten sehr deutlich. Kalt angesetztes Fleisch zeigt einen höheren Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen als die durch die Oberflächenschicht vor Zerstörung geschützten heiß angesetzten Fleischstücke. Ähnliche Ergebnisse liefert die von dem angesetzten Fleisch abgegossene Brühe, von welcher die qualitativ bessere (kalt angesetztes Fleisch) einen stärkeren Auslaugungsgrad und damit auch einen höheren Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen zu erkennen gibt.

Tabelle 5.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen bei verschiedenen Fleischarten in Abhängigkeit von der Zubereitungsart.

	„S" in 100 g Substanz		
Fleischart	Zubereitung	„S" mg	Gesamt-S
Rindfleisch	roh	0,82	62,5
	in kaltem Wasser angesetzt	2,63	53,7
	in heißem Wasser angesetzt	1,75	27,7
	Brühe von heiß angesetzt. Fleisch	0,001	
	Brühe von kalt angesetzt. Fleisch	0,003	
	gebraten	2,27	24,64
Schweinefleisch	in kaltem Wasser angesetzt	1,19	
	in heißem Wasser angesetzt	1,002	
	gebraten	1,23	
	Brühe v. heiß angesetztem Fleisch	0,001	
	Brühe v. kalt angesetzem Fleisch	0,002	
Kalbfleisch	roh	0,22	
	in kaltem Wasser angesetzt	3,95	
	in heißem Wasser angesetzt	2,80	
	gebraten	1,47	
	Brühe v. heiß angesetztem Fleisch	0,001	
	Brühe v. kalt angesetztem Fleisch	0,02	
Pökelfleisch	roh	0,32	
	Lake aus 150 g Fleisch	0,07	
	Fleisch gepökelt	0,016	

Überraschend niedere Werte liefert gepökeltes Schweinefleisch, dessen Gehalt an leicht abspaltbarem Schwefel um mehr als den 20. Teil gegenüber den Schwefelmengen bei unbehandeltem Fleisch zurückgegangen ist. Dementsprechend erhöhen sich die Werte für flüchtige S-Verbindungen in der Pökellake, die diejenigen der Fleischbrühe weit übersteigen.

Der Anteil des flüchtigen Schwefels am Gesamtschwefelgehalt kommt bei der Relation: flüchtige Schwefelverbindungen: Gesamtschwefel = 0,82 : 62,5 zum Ausdruck. Gegenüber rohem Rindfleisch ist bei gekochtem und gebratenem Fleisch eine starke Abnahme des Gesamtschwefelgehaltes festzustellen, die bei gebratenem Fleisch ein Maximum erreicht. Verluste beim Erhitzen dürften die Ursache hierfür sein. Diese Wahrnehmungen stehen im Einklang mit den übrigen beim Braten und Kochen gemachten bisherigen Beobachtungen.

Fischfleisch. Auch mit Fischfleisch wurden Bestimmungen flüchtiger Schwefelverbindungen vorgenommen. Es kam blutfrischer Kabeljau zur Anwendung, der unter den gleichen Bedingungen wie bei Fleisch nach verschiedenen Arten zubereitet wurde. Die Ausgangsmenge war bei allen Versuchen 2 g; eine größere Menge konnte wegen des starken Schäumens nicht gewählt werden. Zur Pökelung des Fleisches wurden 200 g Kabeljau 10 Tage lang in 300 ccm einer 10%igen Kochsalz- und 1%igen Salpeterlösung gelegt. Fleisch und Lake waren nach der angegebenen Zeit geschmacklich einwandfrei.

Tabelle 6.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in 100 g Fischfleisch.

Fischart	Zubereitung	„S" mg
Kabeljau	unbehandelt	0,170
„	gebraten	0,480
„	in kaltem Wasser angesetzt	0,310
„	Brühe von kalt angesetztem Fisch	0,012
„	in heißem Wasser angesetzt	0,260
„	Brühe von heiß angesetztem Fisch	0,010
„	gepökelt	0,050
„	Pökellake v. 100 g Fisch	0,120

Die Versuchsergebnisse stimmen mit den bei der Destillation von Fleisch gemachten Beobachtungen überein. Auch hier zeigte kalt angesetztes Fleisch einen höheren Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen als das heiß angesetzte Fischfeisch. Sehr nieder ist der Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen bei gepökeltem Fleisch, während die Lake selbst einen starken Auslaugungsgrad zu erkennen gibt.

Milch. Diese Versuche sollten allgemein einen Einblick in die mit verdünntem Alkali leicht abspaltbaren flüchtigen Schwefel-

verbindungen und Milchzubereitungen geben; im besonderen dienten sie der Feststellung, ob durch Anwendung von beim Pasteurisieren der Milch üblichen Temperaturen ein Verlust an flüchtigen Stoffen der Schwefelgruppe und damit eine Wertverminderung der Milch einsetzt.

Die Destillation wurde zunächst ohne Zugabe von Alkali ausgeführt. Die dabei beobachtete ungenügende Intensität der entstehenden Blaufärbungen wies auf die geringe Abspaltbarkeit der Schwefelverbindungen bei Milch ohne Zusatz von Natronlauge hin. In einer Reihe von Vorproben wurde die maximale Schwefelabspaltung durch Alkali ermittelt. Dabei zeigt es sich, daß bei Zusatz von 6 ccm 1%iger Natronlauge (auf ein Gesamtvolumen von 100 ccm bezogen) die kräftigste Blaufärbung auftritt.

Tabelle 7.

Abspaltbarkeit der Schwefelverbindungen bei verschiedener Laugenkonzentration.

Zugesetzte Natronlauge ccm auf 100 ccm Milch	Lichtdurchlässigkeit D. %
3	55
6	52
10	54
15	61
20	75

Tabelle 7 gibt einen Überblick über die Asphaltbarkeit bei verschiedenen Alkalikonzentrationen. Wie ersichtlich, sind die Grenzen für die zuzusetzende Alkalimenge eng gezogen, und schon ein geringer Überschuß beeinträchtigt die Stärke der Färbung. Eine Verdünnung von 10 ccm Milch auf ein Gesamtvolumen von 100 ccm lieferte die für die kolorimetrische Auswertung günstigste Blaufärbung.

Ausführung der Bestimmung. 10 ccm Milch werden mit 6 ccm 1%iger Natronlauge versetzt und mit Wasser auf ein Volumen von 100 ccm gebracht und in der beschriebenen Weise 20 ccm abdestilliert. Die Zeit bis zum Beginn des Siedens soll 5½ Minuten nicht übersteigen, während die eigentliche Destillationszeit 4 Minuten beträgt.

Beispiel zur Ausrechnung des Schwefelgehaltes in Milch.

Einwaage: 10 ccm Milch, auf 100 ccm mit Wasser verdünnt.
Destillat: 20 ccm.
Die Werte sind auf 100 ccm Milch bezogen.
Extinktionskoeffizient: 0,655 = 0,0655 mg % Schwefel.

$$\text{mg Schwefel in 100 ccm Milch} = \frac{0{,}0655 \cdot 10}{5}$$

$$= 0{,}1310 \text{ mg Schwefel.}$$

Aus Tabelle 8 ist zu ersehen, daß im Durchschnitt die Werte für Rohmilch nur wenig höher als die für pasteurisierte Milch liegen. Es läßt sich daraus schließen, daß die beim Pasteurisieren üblichen Temperaturen nicht hoch genug sind, um eine erhöhte Abspaltbarkeit des Schwefels zu bedingen. Eine Wertverminderung der pasteurisierten Milch durch Verluste an flüchtigen Stoffen wurde also nicht festgestellt.

Tabelle 8.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in verschiedenen Milcharten in 100 ccm.

Milchart	„S" mg	Fett %	Säuregrad
Kurzzeit erhitzte Milch	0,13	3,45	6,6
„ „ „	0,11	3,6	6,0
„ „ „	0,12	3,4	6,4
„ „ „	0,12	3,6	6,4
„ „ „	0,14	3,5	6,4
„ „ „	0,13	3,6	6,8
Dauererhitzte Milch	0,11	3,4	6,4
Rohmilch	0,15	2,8	6,0
„	0,13	3,3	6,2
„	0,14	3,4	6,4
„	0,13	3,4	6,4
„	0,14	3,5	6,6
„	0,14	3,3	6,4
„	0,14	3,4	6,2

Milchzubereitungen. Die Destillation der Milchzubereitungen erfolgte in derselben Weise wie bei Milch. Die Schaumbildung war sowohl bei Milch als auch bei deren Zubereitungen gering, daher erübrigte sich ein Zusatz von Paraffin. Vor jedem Versuch mußte festgestellt werden, bei welcher Alkalikonzentration eine maximale Schwefelabspaltung stattfindet. Die zugesetzten Al-

kalimengen schwankten zwischen 6 und 15 ccm 1%iger Natronlauge. Es wurde bei allen Proben eine Einwaage von 10 g gewählt, nachdem bei dieser Menge die für die Auswertung günstigste Blaufärbung ermittelt worden war. Die erhaltenen Werte sind auf 100 g bezogen.

Tabelle 9.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in Milchzubereitungen in 100 g.

Erzeugnis	„S" mg	Fett %	Zugesetzte Alkalimenge ccm
Schlagsahne	0,07	20	6
Kaffeerahm	0,11	10	6
Camembert	0,15	50	6
Rosenheimer Süßrahmkäse	0,37	60	15
Tilsiter Bergfreund	0,18	20	15
Butter	0,20	83	6
Siebkäse	0,46		10
Rahmquark	0,55	20	10

Die höchsten Werte für leicht abspaltbare flüchtige Schwefelverbindungen zeigten Siebkäse und Rahmquark, während Schlagsahne und Kaffeerahm einen geringeren Gehalt an diesen Stoffen erkennen lassen. Bei beiden Milcherzeugnissen läßt sich ein Ansteigen des Schwefelgehaltes mit Abnahme des Fettgehaltes feststellen, eine Tatsache, die damit zu erklären ist, daß das Fett das Milcheiweiß und damit auch die S-Verbindungen vor der Zersetzung schützt.

Trockenmilchpulver. Die mit Trockenmilchpulver vorgenommenen Untersuchungen dienten der Feststellung, ob die nach verschiedenen Verfahren hergestellten Erzeugnisse übereinstimmende Werte zeigen und ob bei der gewählten Herstellungstemperatur Veränderungen am Milcheiweiß einsetzen. Um die Verhältnisse bei normaler Vollmilch bezüglich der Trockensubstanz einzuhalten, wurden 1,3 g Trockenmilchpulver nach Zugabe von 6 ccm 1%iger Natronlauge mit Wasser auf 100 ccm verdünnt und 20 ccm Destillat übergetrieben. Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle 10 niedergelgt.

Tabelle 10.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in Trockenmilchpulvern in 100 ccm. Milch bezw. Auflösung.

Erzeugnis	„S" mg
Frischmilch	0,13
Walzenvollmilchpulver	0,13
Walzenmagermilchpulver	0,19
Krausevollmilchpulver	0,22
Krausemagermilchpulver	0,27

Wie in Tabelle 10 zum Ausdruck kommt, liegen bei beiden Verfahren die Werte für Magermilch höher als bei Vollmilch, was sich mit dem höheren Eiweißgehalt der Magermilch erklären läßt. In der Schwefelbilanz kommen die durch Walzentrocknung hergestellten Milchen frischer Milch am nächsten und unterscheiden sich in dieser Beziehung wenig von Frischmilch, eine Tatsache, die für die Beurteilung von Trockenmilchpulvern als Milchersatz nicht ohne Interesse sein dürfte.

Krause-Trockenmilchpulver zeigen gegenüber Frischmilch einen höheren Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen, eine Tatsache, die sich damit erklären läßt, daß bei den nach dem Krause-Verfahren getrockneten Milchen eine stärkere Zersetzung der Eiweißstoffe stattfindet.

Kondensierte Milch. Die mit gezuckerter und ungezuckerter Dosenmilch ausgeführten Versuche sollen einmal die Menge der leicht flüchtigen Schwefelverbindungen in Dosenmilch, zum anderen den Einfluß des Vorkochens bei der Herstellung von gezuckerter Milch auf die Veränderung der chemischen Zusammensetzung der Eiweißstoffe zeigen.

Die eingedickte Milch wurde im Verhältnis 1:1 mit Wasser verdünnt und 10 ccm dieser Milch zur Destillation verwandt. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 11 niedergelegt.

Tabelle 11.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in kondensierter Milch in 100 ccm. Milch bezw. Auflösung (1:1).

Milchart	„S" mg
Rohmilch	0,13
Ungezuckerte Milch	0,08
Gezuckerte Milch	0,20

Die Annahme, daß durch das Vorkochen bei der Herstellung der gezuckerten Dosenmilch eine Zersetzung der Eiweißstoffe eintritt,

wurde also durch die experimentellen Ergebnisse bestätigt. Es zeigte sich, daß die Werte für flüchtige Schwefelverbindungen bei ungezuckerter Milch etwas unter dem Durchschnitt der Zahlen für Frischmilch liegen.

Eier. Die Annahme, daß bei der Lagerung von Eiern eine Veränderung in der chemischen Zusammensetzung der einzelnen Bausteine, im besonderen aber bei den Schwefelverbindungen der Eiweißstoffe eintreten könnte, war die Veranlassung für die Bestimmung flüchtiger Schwefelverbindungen in Eiern.

Da bei Beginn dieser Versuchsreihe die im Kühlhaus Frankfurt a. M. gelagerten Eier verbraucht waren, konnten die Untersuchungen zunächst nicht in dem gewünschten Umfang durchgeführt werden. Später wurden in Verbindung mit dem Städtischen Kühlhaus[7]) Untersuchungen größeren Umfanges angestellt, mit dem Ziel, durch auf breiter Grundlage angestellte Versuche genügend experimentelles Material zu erhalten, um über die Veränderungen der Schwefelverbindungen bei Lagerung von Eiern sichere Angaben machen zu können.

Die ersten Versuche galten der Feststellung, welche Eimengen zur Erreichung kräftigster Blaufärbungen verwendet werden müssen. In einer Reihe von Versuchen wurde ermittelt, daß 30 ccm einer Emulsion von einem Ganzei in 500 ccm Wasser nach der Destillation in bekannter Weise eine kolorimetrisch sicher auswertbare Blaufärbung liefern. Die Emulsionen wurden durch Schlagen des Ganzeies unter gleichzeitigem allmählichen Zugeben von Wasser erhalten. Durch Aufgießen auf ein Filter aus 5fach gelegtem 24fädigem Mull und Nachwaschen mit Wasser wurden die unlöslichen störenden Zellfäden und Zellfragmente entfernt. Die Bestimmung wird nach folgender Vorschrift ausgeführt:

Das Ei wird in einer Porzellanschale aufgeschlagen, gewogen und mit einer Gabel in der eben beschriebenen Weise 4 Min. lang fein verteilt. Nach allmählichem Zusatz von Wasser wird die Eilösung quantitativ durch den Mull in einen vorher gewogenen 500 ccm-Erlenmeyerkolben gegeben und unter Nachwaschen des Filters mit Wasser auf ein Gesamtgewicht von 500 g gebracht. 30 ccm dieser Lösung werden nach jeweiligem leichten Durchmischen der Eilösung mit 70 ccm Wasser unter Zugabe von 2

---

[7]) Auch an dieser Stelle sei dem Leiter der Reichsstelle für Eier und der Direktion des Städt. Kühlhauses für die freundliche Unterstützung und die Überlassung von Untersuchungsmaterial bestens gedankt.

Glasperlen in den Rundkolben gegeben. Die Zeit bis zum Beginn des Siedens soll 5 Min. (höchstens 5 Min. 30 Sek.) betragen. Die eigentliche Destillationsdauer beträgt 5 Min. Bei dem hohen Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen ist es gerade bei der Destillation von Eiern wichtig, die geforderte Zeit genau einzuhalten. Es werden 20 ccm Destillat aufgefangen.

Die Ausführung einer Doppelbestimmung ist notwendig. Nach 20 Min. kann die erhaltene Methylenblaulösung im Stufenphotometer ausgewertet werden. Ein Zusatz von Paraffin war bei der Destillation von Eiern nicht nötig.

Die Bestimmungen wurden mit Einlege-Eiern, die mit „Garantol" konserviert waren, mit Kühlhauseiern aus dem Kühlhaus München und mit Kühlhauseiern aus dem Kühlhaus Frankfurt a. M. ausgeführt. Die Versuche mit Frischeiern sollten einen Überblick über den aus frischen Eiern leicht abspaltbaren flüchtigen Schwefel geben. Die Gegenüberstellung von Kühlhaus- und Einlege-Eiern zeigt, ob die nach beiden Verfahren gelagerten Eier Unterschiede in dem Gehalt an abspaltbaren Schwefelverbindungen zeigen. Im Frankfurter Kühlhaus wurden die dänischen Eier bei 78% rel. Luftfeuchtigkeit und die bulgarischen und ungarischen Eier bei 82% Luftfeuchtigkeit gelagert. Die Lufterneuerung erfolgte 15mal am Tage und die Kühlhaustemperatur betrug konstant 0^0 — $-1/2^0$ C. Die Eier lagerten seit Mitte Mai und wurden laufend auf flüchtige Schwefelverbindungen untersucht; sie waren alle geruchlich und geschmacklich einwandfrei.

Beispiel zur Berechnung des Gehaltes an flüchtigen Schwefelverbindungen in Eiern.

Gewicht des Eies: 52 g

Einwaage: 30 ccm einer Lösung von 52 g auf 500 g Wasser

Destillat: 20 ccm. Da die Eichkurve auf 100 ccm bezogen ist, muß durch Division mit 5 auf 20 ccm umgerechnet werden.

Extinktionskoeffizient: 0,275 = 0,0275 mg% S.

Der S-Gehalt wird auf ein Gesamtgewicht von 100 g Ei bezogen.

$$\text{mg S in 100 g Ei} = \frac{500 \cdot 0{,}0275 \cdot 100}{30 \cdot 5 \cdot 52}$$

= 0,1718 mg Schwefel.

Um einen Überblick über die in einem Ei vorhandene Menge flüchtiger Schwefelverbindungen zu geben, wurden die Werte auf „S" im Gesamtinhalt umgerechnet.

Gesamtei-Inhalt = Eiklar + Eidotter.

Tabelle 12.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in Frisch-Eiern.

Versuch	Art der Eier	Gewicht des Ei-Inhaltes g	„S" in 100 g Ei-Inhalt mg	„S" i. Gesamt-Ei-Inhalt mg
1	ganz frisch	45	0,15	0,07
2	„ „	47	0,20	0,09
3	„ „	49	0,14	0,07
4	„ „	50	0,14	0,07
5	„ „	48	0,21	0-10
6	10—20 Tage gelagert	50	0,16	0,09
7	„ „ „	50	0,19	0,09
8	„ „ „	52	0,17	0,09
9	„ „ „	55	0,20	0,11
10	„ „ „	55	0,24	0,15
11	„ „ „	44	0,17	0,08
12	„ „ „	49	0,20	0,99
13	„ „ „	55	0,23	0-13
14	„ „ „	51	0,18	0,09
15	„ „ „	48	0,17	0,08
16	„ „ „	46	0,22	0,10
17	„ „ „	52	0,17	0,09
18	„ „ „	55	0,16	0,08

Mittelwert aus 18 Versuchen = 0,183 mg „S" in 100 g Ei-Inhalt.

Tabelle 13.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in Kühlhaus-Eiern.

Versuch	Gewicht des Ei-Inhaltes g	„S" in 100 g Ei-Inhalt mg	„S" im Gesamt-Ei-Inhalt mg
1	44,5	0,28	0,12
2	46,0	0,36	0,16
3	42,0	0,33	0,13
4	44,5	0,29	0,13
5	46,0	0,27	0 19
6	43,0	0,27	0,12
7	41,7	0,32	0,13
8	46,0	0,34	0,16
9	44,0	0,43	0,19
10	42,0	0,37	0,16

Mittelwert aus 10 Versuchen = 0,32 mg „S" in 100 g Ei-Inhalt.

Tabelle 14.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in Einlege-Eiern.

Versuch	Gewicht des Ei-Inhaltes g	„S" in 100 g Ei-Inhalt mg	„S" im Gesamt-Ei-Inhalt mg
1	42	0,12	0,05
2	43	0,12	0,05
3	43,6	0,13	0,06
4	44	0,13	0,05
5	42	0,12	0,05
6	43	0,13	0,06
7	41,5	0,12	0,05
8	42	0,13	0,06
9	42	0,12	0,05
10	41,5	0,14	0,06

Mittelwert aus 10 Versuchen = 0,13 mg „S" in 100 g Ei-Inhalt.

Tabelle 15.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in Kühlhaus-Eiern.

	mg „S" in 100 g Ei-Inhalt						
Herkunft der Eier	Tag der Einlagerung 1938	Tag der Untersuchung 1938					
		30. 5.	30. 5.	24. 6.	19. 7.	28. 8.	22. 11.
Holland	21. 3.	—	—	—	0,35	0,40	0,48
Belgien	4. 4.	—	—	—	0,25	0,31	0,43
Bulgarien	3. 5.	0,21	0,27	0,29	0,38	0,45	—
Dänemark	20. 5.	0,14	0,20	0,25	0,34	0,49	—
Ungarn	21. 5.	0,18	0,23	0,25	0,41	0,51	—
Polen	22. 5.	0,39	0,42	0,41	—	—	—

Eine Übersicht über die in den Tabellen festgelegten Werte zeigt, daß die mit Garantol eingelegten Eier einen geringeren Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen aufweisen als die im Kühlhaus gelagerten Eier. Dies dürfte damit zusammenhängen, daß die Kieselsäure des Konservierungsmittels die Poren der Eischalen verschließt und das Eindringen von Luft verhindert und damit auch eine Zersetzung des Ei-Inhaltes erschwert.

Die experimentellen Ergebnisse der in Verbindung mit dem Städtischen Kühlhaus ausgeführten Untersuchungen bestätigen die

Annahme, daß bei Lagerung von Eiern eine Veränderung in der chemischen Zusammensetzung der einzelnen Bausteine, im besonderen aber bei den Schwefelverbindungen der Eiweißstoffe eintreten könnte. Frischeier zeigten im Durchschnitt einen Gehalt von 0,15 bis 0,20 mg „S" in 100 g Ei, während nach einer Lagerzeit von 6 Monaten der Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen 0,45 bis 0,50 mg betrug.

b) in pflanzlichen Stoffen.

Kaffee. Um den Verlauf der Zersetzung der chemischen Bestandteile beim Rösten von Kaffee verfolgen zu können, wurden bei selbstgeröstetem Kaffee Schwefelbestimmungen vorgenommen. Die Röstung erfolgte in einem elektrischen Röstapparat mit Handbetrieb ohne Temperaturkontrolle. Nach Zugabe von ungefähr 300 g Rohkaffee in die Rösttrommel wird unter langsamem Drehen durch zeitweiliges Unterbrechen der Stromzufuhr der Röstvorgang so gelenkt, daß sich ein gleichmäßiges Ansteigen der Braunfärbung ergibt. In gleichen Zeitabständen wurden Proben des immer dunkler werdenden Kaffees entnommen. Zur Bestimmung wurden 3 g Kaffee mit 15 ccm 1%iger Natronlauge versetzt und mit Wasser auf 100 ccm ergänzt. Die Menge des Destillates betrug 20 ccm.

Die Auswertung der anfallenden gefärbten Lösungen bereitete anfänglich insofern Schwierigkeiten, als nicht blaue, sondern blaue bis rote Färbungen auftraten. Diese Mißfärbungen dürften von beim Rösten gebildeten Röststoffen herrühren. In ausgedehnten Untersuchungen wurde nun versucht, diese die Blaufärbung störenden Stoffe zu beseitigen, etwa auf dem Wege der Absorption, wo als Absorptionsmittel Kaolin, Calciumcarbonat, Kohle und Brockmannsches Aluminiumoxyd verwendet wurden. Die dabei erhaltenen Lösungen lieferten aber auch Mißfärbungen. Unter der Quarzlampe zeigten sich wohl stark fluoreszierende Schichten, deren Elution mit heißem Wasser aber zeigte, daß sie die störenden Stoffe nicht enthielten. Weder Destillation unter vermindertem Druck noch Anwendung größerer Mengen von Oxydationsmitteln konnten die Mißfärbungen beseitigen. Erst die Herabsetzung der angewandten Kaffeemenge auf 3 g und die damit erreichte Verminderung der störenden Stoffe führte zu einheitlich blauen, kolorimetrisch gut auswertbaren Lösungen.

Tabelle 16.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in 100 g Kaffee in Abhängigkeit von dem Röstgrad.

Fraktion	Farbe des Kaffees	„S" in mg
0 Rohkaffee	farblos	0,46
1	hell	0,49
2	hell	0,53
3	hell	0,53
4	mittel	0,59
5	mittel	0,46
6	normal	0,20
7	dunkel	0,09

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß bis zur 5. Fraktion ein Ansteigen des Schwefelgehaltes zu beobachten ist, daß dann aber durch die auftretende pyrogene Zersetzung eine starke Abnahme an flüchtigen färbenden Substanzen eintritt. Ein Grund für diese Abnahme dürfte die Zerstörung der für die Schwefelfärbung in Frage kommenden Eiweißsubstanzen durch die hohen Temperaturen am Schluß der Röstung sein. Bemerkenswert ist, daß Rohkaffee, dem die Chlorogensäure durch Extraktion entzogen war, höhere Werte als normaler Rohkaffee lieferte.

Malz. Neben der Verzuckerung der Stärke gehen noch mancherlei chemische Umwandlungen bei der Bereitung des Malzes im Korn vor sich. Neben den enzymatischen Vorgängen und der Bildung von Karamel- und gewissen Aromastoffen finden gleichzeitig auch Veränderungen in der Zusammensetzung der Eiweißstoffe und damit auch der Schwefelverbindungen statt. Die Bedeutung dieser Stoffe für die Güte des Bieres waren Veranlassung für die Untersuchung der beim Darren des Malzes entstehenden Umsetzungsprodukte. Das Ausgangsmaterial wurde zunächst in Wasser aufgeweicht und dann in flacher Schicht auf einem Brette ausgebreitet und öfters umgewendet. Nachdem die Keimlinge Kornlänge erreicht hatten, wurde das Grünmalz im Trockenschrank bei langsam ansteigenden Temperaturen bei 100° gedarrt. 0,5 g Getreide wurden mit 3 ccm 1%iger Natronlauge und 2 g Paraffin versetzt und in der üblichen Weise destilliert.

Tabelle 17.

Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen in 100 g Getreide und Malz.

Getreideart	„S" mg
Sommergerste	0,26
helles Gerstenmalz	0,57
dunkles Gerstenmalz	0,78
Roggen	0,14
Roggenmalz	0,35
Hafer ohne Spelzen	0,52
Hafermalz	0,79
Weizen	0,29
Weizenmalz	0,63

Den höchsten Gehalt an leicht abspaltbaren flüchtigen Schwefelverbindungen weist Hafer auf, dem Weizen, Gerste und Roggen folgen. Alle Malzarten zeigten gegenüber dem Ausgangsmaterial eine beträchtliche Steigerung des Gehaltes an flüchtigen Schwefelverbindungen. Die chemischen und enzymatischen Vorgänge beim Keimen und Darren des Malzes bedingen also eine leichtere Abspaltbarkeit flüchtiger Schwefelverbindungen.

II. Bestimmung flüchtiger Stoffe durch Oxydation mit Hypochloritlösung.

1. Ausarbeitung eines Bestimmungsverfahrens.

Die im folgenden beschriebenen Versuche galten der Erfassung von flüchtigen oxydierbaren Stoffen aus tierischem und pflanzlichem Material. Es sollten die mit Wasserdampf flüchtigen unbekannten Verbindungen in ihrer Gesamtheit durch Festlegung des „Oxydationswertes" (mengenmäßiger Verbrauch eines Oxydationsmittels) bestimmt bezw. charakterisiert werden. Zunächst wurde die von R. Strohecker, R. Vaubel, A. Tenner[8]) beschriebene Titration flüchtiger Stoffe mit Kaliumpermanganatlösung herangezogen, ein Verfahren, das darauf beruht, mittels Wasserdampfs eine bestimmte Menge flüchtiger Bestandteile abzudestillieren und das Destillat mit Kaliumpermanganatlösung zu oxydieren. Hierauf wurden durch Titration des Überschusses an Oxydationsmitteln mit Oxalsäurelösung die flüchtigen Anteile mengenmäßig erfaßt. Die angegebene Methode weist verschiedene Mängel auf.

Es zeigt sich, daß die Herstellung einer für längere Zeit haltbaren n/100 Kaliumpermanganatlösung nicht möglich ist. Es konnte weiter festgestellt werden, daß das für die Oxydation der flüchtigen Stoffe vorgeschriebene Erwärmen der Lösung allein schon einen nicht unbeträchtlichen Verbrauch an Permanganatlösung bedingt.

Versuche mit doppeltdestilliertem Wasser lieferten recht hohe Oxydationszahlen. Da beabsichtigt war, diese Verfahren für die Bestimmung flüchtiger Stoffe aus Milch und Milcherzeugnissen heranzuziehen, und da diese Produkte, wie die Voruntersuchungen zeigten, relativ niedrige „Oxydationszahlen" lieferten, waren die Fehlerquellen bei der von A. Tenner beschriebenen Methode für eine genaue Bestimmung zu groß. Auf der Suche nach einem anderen, länger haltbaren Oxydationsmittel, das die beschriebenen Mängel nicht aufweist, zeigte sich eine Hypochloritlösung als recht brauchbar. Die Wirkung dieser Javellschen Lösung besteht einmal in einer Oxydation flüchtiger Stoffe, zum

[8]) R. Strohecker, R. Vaubel, A. Tenner, loc. cit.

anderen aber möglicherweise in einer teilweisen chemischen Anlagerung von Chlor.

Die Vorversuche über die Brauchbarkeit dieses Verfahrens galten der Feststellung, welche Mengen Hypochloritlösung zur vollständigen Oxydation der durch Destillation gewonnenen flüchtigen Bestandteile erforderlich sind. Dabei zeigten Reihenversuche, daß 20 ccm des Oxydationsmittels bei einer Einwirkungsdauer von 15 Minuten zur vollständigen Oxydation genügen. Dies wurde dadurch erreicht, daß das Destillat 15 Min. lang in ein siedendes Wasserbad gestellt wurde. In der angegebenen Zeit waren keine durch das Erwärmen der Lösung bedingten Verluste feststellbar. Direktes Erwärmen der Lösung über freier Flamme hatte Verluste an Chlor zur Folge. Durch Blindversuche mit doppeltdestilliertem Wasser und mit Kondenswasser aus der Apparatur konnte festgestellt werden, daß diese kein Chlor verbrauchen.

Zur Herstellung der n/100 Hypochloritlösung wurden ungefähr 4,5 ccm einer gewöhnlichen „Natriumhypochloritlösung 25° Be" mit Wasser auf 100 ccm verdünnt. Der Titer dieser Lösung wurde wie folgt ermittelt: 20 ccm dieser etwa n/100 Lösung werden in einem Schliffkolben mit 10 ccm einer 10%igen Kaliumjodidlösung und 5 ccm 25%iger Salzsäure versetzt, der verschlossene Kolben 2 Minuten lang ins Dunkle gestellt und dann das ausgeschiedene Jod mit n/100 Thiosulfatlösung und Stärkelösung als Indikator zurückgenommen. Versuche ergaben eine Haltbarkeit der Lösung von 14 Tagen.

Die Destillation der flüchtigen Stoffe selbst wird in der von A. Tenner beschriebenen Apparatur ausgeführt, und zwar in der Weise, daß in einem 200 ccm Destillationsgefäß 30 ccm abdestilliert werden. Ein Arbeiten im Stickstoffstrom und die Anwendung schaumzerstörender Stoffe war nicht erforderlich. Die Destillationszeit erstreckte sich bei allen Versuchen (vom Auftreten der ersten Dampfblasen ab bis zur Beendigung der Destillation) auf 5½ Min., die mit der Stoppuhr gemessen wurden. Nach dieser Zeit fallen 30 ccm Destillat an, die die Hauptmenge an flüchtigen Stoffen enthalten, die bei schonender Behandlung (geringe Destillationszeit und niedrige Temperatur) erwartungsgemäß unverändert vorliegen. Vorgenommene Kontrollversuche bestätigten diese Annahme, so daß die anhand der „Oxydationszahl" ermittelten Werte die Gesamtmenge der flüchtigen Stoffe darstellen. Die Bestimmung wird folgendermaßen vorgenommen:

Der zu untersuchende Stoff wird in den Destillierkolben gegeben und auf die eben beschriebene Weise in 15 Min. 30 ccm

Destillat übergetrieben. Während der Destillation wird durch mäßiges Erwärmen des Kochkolbens mit einer kleinen Flamme die Flüssigkeitsmenge im Kolben immer konstant gehalten. 15 ccm des auf diese Weise erhaltenen Destillates werden in einem 200 ccm-Schliffkolben mit 20 ccm n/100 Hypochloritlösung versetzt und 15 Min. in ein Wasserbad gestellt. Nach Abkühlen auf Zimmertemperatur werden 10 ccm einer 10%igen Kaliumjodidlösung und 5 ccm Salzsäure zugegeben; der Kolben wird verschlossen und 2 Min. im Dunkeln stehen gelassen. Mit Stärke als Indikator wird dann der Überschuß an Jod mit n/100 Thiosulfatlösung zurücktitriert.

Die Oxydationszahl gibt den zur Oxydation von flüchtigen Stoffen erfaßten Verbrauch an n/100 Hypochloritlösung in ccm an.

Die Brauchbarkeit des beschriebenen Verfahrens zur Bestimmung der Gesamtmenge flüchtiger Stoffe sollte die Bestimmung der Oxydationszahl bei Milch- und Milcherzeugnissen zeigen.

2. *Bestimmung wasserdampfflüchtiger Stoffe.*

a) in Milch.

Diese Versuche verfolgten den Zweck, die Bildung flüchtiger Duft- und Aromastoffe in der Milch in Abhängigkeit von der Fütterung durch Anwendung der „Oxydationszahl" zahlenmäßig auszuwerten. Die Untersuchungen waren insofern wichtig, als darüber noch wenig Angaben im Schrifttum vorliegen.

Die Versuche wurden in der Zeit der Trockenfütterung (Winter) und der Grünfütterung (Sommer) durchgeführt und damit der Einfluß dieser beiden Fütterungsarten auf die in der Milch auffindbaren flüchtigen Verbindungen verfolgt. Die verwendeten Milchen stammten aus dem hessischen Molkereigebiet. Neben Rohmilch kam auch past. Milch zur Untersuchung. Die Zahlenwerte der past. Milch sollten Aufschluß über die Beeinflussung der Milch durch die beim Pasteurisieren üblichen Temperaturen bringen.

Ausführung der Bestimmung: 100 ccm Milch werden in den Destillationskolben gegeben und unter den angegebenen Bedingungen 30 ccm Destillat aufgefangen. 15 ccm dieses Destillates werden mit 20 ccm n/100 Hypochloridlösung versetzt und 15 Min. auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der Verbrauch an Oxydationsmitteln festgelegt. Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle 18 niedergelegt.

Die Ergebnisse lassen erkennen, daß die Fütterungsarten auch in der Art und Menge der flüchtigen Stoffe der Milch zum Ausdruck kommen, wie die verschiedenen „Oxydationszahlen" beweisen. Zugleich ist zu ersehen, daß die Werte für Rohmilch höher liegen als diejenigen von past. Milch, eine Beobachtung, die in Übereinstimmung steht mit den bei der Bestimmung flüchtiger Schwefelverbindungen ermittelten Werten. Es gelingt also nach zwei verschiedenen Arten der Beweis, daß die Pasteurisation einen

Tabelle 18.

„Oxydationszahlen" verschiedener Milchen in Abhängigkeit von der Fütterung.

Rohmilch		Pasteuris. Milch	
Tag der Untersuchung	„Oxydat.-Zahl"	Tag der Untersuchung	„Oxydat.-Zahl"
8. 2.	6,0	11. 2.	6,4
15. 2.	6,0	13. 2.	5,9
16. 2.	6,8	15. 2.	6,0
19. 2.	7,4	17. 2.	6,0
23. 2.	6,8	22. 2.	5,8
25. 2.	7,4	24. 2.	5,4
27. 2.	7,0	27. 2.	5,6
2. 3.	7,6	1. 3.	6,2
5. 3.	7,6	4. 3.	6,0
6. 3.	8,0	6. 3.	6,4
9. 3.	8,0	10. 3.	7,2
12. 3.	8,8	13. 3.	7,4
16. 3.	8,0	17. 3.	7,4
22. 3.	8,4	23. 3.	7,2
25. 3.	8,0	25. 3.	7,2
1. 4.	8,6	2. 4.	7,6
5. 4.	9,0	6. 4.	7,4
10. 4.	9,0	9. 4.	7,3
14. 4.	9,6	16. 4.	7,4
17. 4.	9,2	19. 4.	7,6
20. 4.	9,6	22. 4.	7,4

Verlust an flüchtigen Stoffen bedingt. Eine Unterscheidung von pasteurisierter und nichtpasteurisierter Milch gelingt auf diesem Wege nicht, da der Unterschied größenordnungsmäßig zu gering ist und da die nicht zu vermeidenden Schwankungen bei der Fütterung die Aufstellung einheitlicher Standardwerte nicht erlauben.

Säuerung der Milch. In weiteren Versuchen wurde der Einfluß der Säuerung auf die Veränderung der flüchtigen Stoffe verfolgt. Zur Einhaltung gleichmäßiger Bedingungen wurde die Milch im Kühlschrank solange aufbewahrt, bis ein gewisser maxi-

maler Säuregrad erreicht war. 100 ccm der gesäuerten Milch wurden in bekannter Weise destilliert und in 30 ccm Destillat die „Oxydationszahl" bestimmt.

Tabelle 19.

„Oxydationszahlen" von Milch in Abhängigkeit von der Säuerung.

Milchart	Säuregrad	„Oxydat.-zahl"	Säuregrad	„Oxydat.-zahl"	Säuregrad	„Oxydat.-zahl"
Rohmilch	7,4	6,4	16,4	8,2	24,8	15,2
„	6,8	8,0	15,0	10,4	25,2	17,4
„	6,8	8,0	16,0	11,2	27,4	14,4
„	7,2	6,6	16,8	10,2	26,4	17,0
„	7,6	4,2	16,2	6,2	25,6	15,2
„	6,4	8,4	16,0	12,6	25,8	17,0
„	8,4	8,0	19,4	12,8	25,3	16,4
„	6,6	5,6	16,0	9,6	32,0	18,8
Past. M.	6,0	5,6	16,0	9,6	32,0	18,8
„	7,1	6,0	18,0	10,4	32,8	18,8
„	7,2	7,4	16,8	10,8	30,2	18,2

Die Versuchsergebnisse lassen bei allen Proben eine Zunahme an flüchtigen oxydablen Stoffen in direkter Abhängigkeit von der Zunahme des Säuregrads erkennen. Die Zunahme ist auffallend hoch und mit eine Folge des Mikroorganismenwachstums. Diese beobachtete Zunahme an flüchtigen Verbindungen war die Veranlassung zur Untersuchung neutralisierter saurer Milch.

Neutralisation gesäuerter Milch. Zum Nachweis der Neutralisation gesäuerter Milch mit Hilfe der beschriebenen „Oxydationszahl" wurde die Milch auf einen normalen Säuregrad von 6 neutralisiert und dann die „Oxydationszahl" bestimmt. Derart behandelte Milch zeigte den gleichen Verbrauch des Oxydationsmittels wie nicht neutralisierte Milch. Da aber der Nachweis für Neutralisation der Milch auf einfacherem Wege gelingt, wurde davon abgesehen, durch umfangreiche Untersuchungen die Brauchbarkeit dieses Verfahrens für die praktische Milchkontrolle auszubauen.

b) Milcherzeugnisse.

Um einen allgemeinen Überblick über die Menge und die Art der bei der Destillation von Milch-Zubereitungen übergehenden Stoffe zu erhalten, wurden die unten beschriebenen Versuche ausgeführt.

Es wurden 20 g Material mit Wasser auf 100 ccm ergänzt und dann in üblicher Weise 30 ccm Destillat gewonnen, von denen je 15 ccm zur Bestimmung der „Oxydationszahl" verwendet wurden. Die Auswahl der für die Destillation angewandten Milcherzeugnisse erstreckte sich auf: Handkäse, Tilsiter Schmelzkäse, Schweizer Käse, Champignon-Rahmkäse, Rosenheimer Süßrahmkäse, Butter, Schlagrahm und Kaffeerahm.

„Oxydationszahlen" verschiedener Milcherzeugnisse.

Art der Erzeugnisse	Fettgehalt %	„Oxydat.-Zahl"
Handkäse weich	—	75
Handkäse halbweich	—	60
Tilsiter Schmelzkäse	20	68
Schweizer Käse	45	54
Champignon-Rahmkäse	60	51
„ „ weich	60	55
Rosenheimer Süßrahmkäse	60	40
Butter	85	35
Schlagrahm	20	6,0
Kaffeerahm	10	7,0

Die Ergebnisse stehen teilweise in Übereinstimmung mit den früheren Beobachtungen, wonach sich eine Abnahme flüchtiger Stoffe mit zunehmendem Fettgehalt ergibt. Schlagrahm ergab den niedrigsten Wert; dann folgen Butter und die verschiedenen Käsesorten in einer dem Fettgehalt entsprechenden Reihenfolge.

Es wurde außerdem noch überprüft, ob die Bestimmung der „Oxydationszahl" in Milch- und Wasserbrötchen den Zusatz von Milch erkennen lassen. Die ermittelten Werte zeigten wohl einen höheren Verbrauch an Oxydationsmitteln bei Milchbrötchen, doch war der zahlenmäßige Unterschied zu gering, um darauf einen Nachweis zu begründen. Die Menge der Milch in Brötchen ist eben zu gering, um einen stark erhöhten Verbrauch an Javell'scher Lauge zu bedingen. Dieselben Versuche wurden auch mit Weiß- und Schwarzbrot ausgeführt, die ähnliche Resultate lieferten.

C. Zusammenfassung.

Bei den vorliegenden Untersuchungen zur Ermittlung der Veränderungen der Nahrungs- und Genußmittel durch chemische, physikalische oder biologische Einflüsse wurde die Bestimmung „flüchtiger Stoffe" herangezogen, indem einerseits oxydierbare wasserdampfflüchtige Stoffe durch Titration mit Hypochlorit lösung, andererseits flüchtige Schwefelverbindungen ermittelt wurden.

1. Die leicht flüchtigen Schwefelverbindungen wurden durch verdünnte Alkalilösungen abgespalten und anschließend in eine Lösung von Dimethyl-p-phenylendiamin und Eisenchlorid destilliert und die dadurch gebildete Methylenblaufärbung auf ihre Verwendbarkeit für kolorimetrische Bestimmungen überprüft. So wurde durch Festlegung einer Eichkurve unter Berücksichtigung des geeigneten Farbfilters und in Abhängigkeit der Lichtbeeinflussung die stufenphotometrische Auswertung gesichert. Das Verfahren bietet die Möglichkeit, flüchtige Schwefelverbindungen in organischen Stoffen der verschiedensten Art ohne großen Zeitaufwand in Mengen bis zu 10 γ noch mit Sicherheit zu erfassen.

   Mit den vorstehenden experimentellen Ergebnissen wurde eindeutig bewiesen, daß tierische und pflanzliche Stoffe und die daraus hergestellten Zubereitungen flüchtige, leicht abspaltbare Schwefelverbindungen enthalten, deren Größenordnung einerseits durch die Art der vorhandenen Eiweißstoffe, andererseits durch die gewählte Destillationsart bestimmt wird.

2. Die mit Fleisch und mit Fischen vorgenommenen Untersuchungen geben einen Überblick über die in den verschiedenen Fleischsorten vorhandenen Mengen flüchtiger Schwefelverbindungen. Rindfleisch zeigt den höchsten Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen, dann folgen Kalbfleisch, Schweinefleisch und Fischfleisch. Das Fleisch wurde nach verschiedenen Arten zubereitet und durch die Destillation gezeigt, daß die beim Einlegen des Fleisches in siedendes Wasser einsetzende Koagulation der Eiweißstoffe an der Außenschicht das Innere des Fleisches vor einer weiteren Auslaugung schützt. Das Ver-

halten von heiß angesetztem Fleisch gibt zu erkennen, daß das Zusammenziehen der Oberfläche beim Einlegen in heißes Wasser das Innere der Stücke vor weiterer Auslaugung schützt. Die qualitativ bessere Brühe liefert kalt angesetztes Fleisch und gibt einen stärkeren Auslaugungsgrad und damit auch einen höheren Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen als heiß angesetztes Fleisch zu erkennen. Auffallend stark ist bei Pökelfleisch die Auslaugung der löslichen Bestandteile aus dem Fleischinnern beim Einlegen in Lake. Die Pökellake selbst zeigt einen hohen Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen, der sogar denjenigen guter Fleischbrühe (Brühe aus kalt angesetztem Fleisch) übertrifft.

3. Die Annahme, daß bei Lagerung von Eiern eine Veränderung in der chemischen Zusammensetzung der einzelnen Bausteine, im besonderen aber bei den Schwefelverbindungen der Eiweißstoffe eintreten könnte, wurde durch die Versuchsergebnisse bestätigt. Umfangreiche Untersuchungen ergaben bei Frischeiern im Durchschnitt einen Gehalt von 0,15—0,2 mg „S", während nach einer Lagerzeit von 6 Monaten der Gehalt an flüchtigen „S"-Verbindungen 0,45 bis 0,5 mg betrug. Bei Eiern, die in der haushaltsmäßigen Weise mit „Garantol" eingelegt waren, zeigte sich eine geringere Veränderung in der chemischen Zusammensetzung der Eiweißstoffe als bei Kühlhauseiern. Das dürfte damit zusammenhängen, daß die Kieselsäure des Konservierungsmittels die Poren der Eischalen verschließt und damit eine Zersetzung des Eiinhaltes erschwert.

4. Durch das Pasteurisieren von Milch tritt kein wesentlicher Verlust an flüchtigen Schwefelverbindungen auf, was beim Vergleich von past. Milch mit Rohmilch deutlich zum Ausdruck kommt. Eine Wertverminderung der Milch durch Verlust an flüchtigen Stoffen wurde also nicht festgestellt.

Bei verschiedenen Milcherzeugnissen, wie bei Siebkäse und Rahmquark läßt sich ein Ansteigen des Schwefelgehaltes mit Abnahme des Fettgehaltes feststellen, eine Tatsache, die damit zu erklären ist, daß das Fett das Milcheiweiß vor einer Zersetzung schützt. Die Versuchsergebnisse ermöglichen einen Überblick über den Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen der verschiedenen Milchzubereitungen. In der Schwefelbilanz kommen die durch Walzentrocknung hergestellten Milcherzeugnisse der frischen Milch am nächsten, während die nach dem Krause-Verfahren hergestellten Trockenmilchpulver einen höheren Gehalt an flüchtigen S-Ver-

bindungen zeigen. Die Zersetzungen der Eiweißverbindungen ist also bei den walzegetrockneten Milchpulvern geringer als bei den nach dem Krause-Verfahren getrockneten Milchpulvern.

Ungezuckerte Dosenmilch weist einen geringeren Gehalt an flüchtigen S-Verbindungen als Frischmilch auf, während die gezuckerte Dosenmilch einen höheren Gehalt an diesen Stoffen zeigt. Diese Verhältnisse lassen sich dadurch erklären, daß beim Kochen ungezuckerter Milch flüchtige Stoffe verloren gehen, beim Vorkochen von gezuckerter Milch jedoch, wohl infolge der höheren Temperaturen Zersetzungen der Eiweißstoffe und Abspaltung neuer flüchtiger Schwefelverbindungen stattfinden.

5. Gerösteter Kaffee zeigt ein Ansteigen des Gehaltes an flüchtigen Schwefelverbindungen mit zunehmender Rösttemperatur. Das Auftreten störender Röststoffe und die Zersetzung der Eiweißstoffe bedingen eine Abnahme an flüchtigen Stoffen. Chlorogensäurefreier Rohkaffee weist einen höheren Schwefelgehalt als gewöhnlicher Rohkaffee auf.

6. Alle Malzarten zeigen gegenüber dem Ausgangsmaterial eine beträchtliche Steigerung des Gehaltes an flüchtigen Schwefelverbindungen. Die chemischen und enzymatischen Vorgänge beim Keimen und Darren des Malzes bedingen also eine leichtere Abspaltbarkeit dieser Verbindungen. Den höchsten Gehalt an flüchtigen Schwefelverbindungen weist Hafer auf, dem Weizen, Gerste und dann Roggen folgen.

7. Zur Bestimmung wasserdampfflüchtiger Stoffe wurde eine bestimmte Menge flüchtiger Stoffe mit Wasserdampf abdestilliert und das Destillat mit n/100 Hypochloritlösung gekocht. Die Wirkungsweise dieser Javellschen Lauge besteht einmal in einer Oxydation flüchtiger Stoffe, zum anderen aber möglicherweise in einer teilweisen Anlagerung von Chlor. Die übergehenden Verbindungen werden in ihrer Gesamtheit durch Festlegung eines Oxydationswertes bestimmt bezw. charakterisiert. Der mengenmäßige Verbrauch an n/100 Hypochloritlösung wurde als „Oxydationszahl" festgelegt.

8. Der Einfluß der Trocken- und Grünfütterung auf die Bildung flüchtiger Stoffe in Milch wurde zahlenmäßig verfolgt. Mit Beginn der Grünfütterung war ein Ansteigen der Oxydationszahlen festzustellen. Das beweist, daß die Fütterungsart auch in der Art und Menge der flüchtigen Stoffe der Milch zum Ausdruck kommt. In Übereinstimmung mit den

vorangegangenen Versuchsergebnissen war bei pasteurisierter Milch ein Verlust an flüchtigen Stoffen festzustellen. Eine Unterscheidung von pasteurisierter und nichtpasteurisierter Milch gelingt auf diesem Wege aber nicht, da der Unterschied größenordnungsmäßig zu gering ist.

Eine Säuerung der Milch hatte eine Zunahme an flüchtigen oxydierbaren Stoffen in Abhängigkeit von der Zunahme des Säuregrades zur Folge. Es gelingt, durch Bestimmung der „Oxydationszahl" die Neutralisation von Milch mit Natriumbicarbonat nachzuweisen, da derart behandelte Milch den gleichen Verbrauch an Oxydationsmitteln wie nicht neutralisierte Milch zeigt.

9. Die Bestimmung der „Oxydationszahl" in Milchzubereitungen ergab bei Schlag- und Kaffeerahm die niedrigsten Werte; dann folgen Butter und verschiedene Käsesorten in einer dem Fettgehalt entsprechenden Reihenfolge. Danach ergibt sich eine Abnahme flüchtiger Stoffe mit zunehmendem Fettgehalt, ein Ergebnis, das mit den früheren Beobachtungen in Übereinstimmung steht.

Inhaltsverzeichnis.

A) Einführung 5

B) Eigene Versuche

I. Kolorimetrische Bestimmung von flüchtigen Schwefelverbindungen

1. Ausarbeitung eines Nachweis- und Bestimmungsverfahrens 15

2. Bestimmung flüchtiger Schwefelverbindungen

a) in *tierischen* Stoffen 23
Fleisch
Milch- und Milcherzeugnisse
Eier

b) in *pflanzlichen* Stoffen 37
Kaffee
Cerealienfrüchte und Malz

II. Bestimmung flüchtiger Stoffe durch Oxydation mit Hypochloritlösung

1. Ausarbeitung eines Bestimmungsverfahrens . 40

2. Bestimmung wasserdampfflüchtiger Stoffe

a) in Milch 42

b) in Milcherzeugnissen 44

C) Zusammenfassung 46

Lebenslauf.

Am 15. Juli 1912 wurde ich in Edenkoben/Pfalz als Sohn des Kaufmanns Jakob Keller geboren. Ich besuchte zunächst vier Jahre die Grundschule, dann 6 Jahre das Progymnasium in Edenkoben und legte Ostern 1932 am Gymnasium Neustadt a. d. H. die Reifeprüfung ab. Anschließend trat ich als Praktikant in die Apotheke in Maikammer ein und bestand am 13. März 1934 das Pharmazeutische Vorexamen in Speyer a. Rh. Im Sommer-Semester 1934 begann ich an der Technischen Hochschule in Darmstadt das pharmazeutische Studium und bestand daselbst am 27. März 1936 die Staatsprüfung als Apotheker.

An derselben Hochschule beschäftigte ich mich noch ein weiteres Semester mit organisch-präp. Arbeiten und begann im November 1936 am Universitäts-Institut für Nahrungsmittelchemie in Frankfurt a. M. mit der Durchführung der vorliegenden Promotionsarbeit, die am 8. Mai 1938 abgeschlossen wurde.

Vom 24. Oktober 1938 bis zum 2. Januar 1939 unterzog ich mich meiner 2. militärischen Übung und wurde am 2. 1. 1939 zum Reserveoffizieranwärter ernannt.

Hans Keller.